Aus dem städtischen Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten
Charlottenburg-Westend (Leiter: Dr. G. Elkeles)

Über die Verwendung
von
Kalbsmilznährböden in der Bakteriologie

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
in der Medizin und Chirurgie der hohen
medizinischen Fakultät der schlesischen
Friedrich-Wilhelms-Universität zu Breslau

vorgelegt von

Friedrich Berger
Arzt aus Breslau

Universitätsverlag von Robert Noske in Borna-Leipzig
1926

Gedruckt mit Genehmigung der mediz. Fakultät der Universität Breslau

Berichterstatter: Professor Dr. Pfeiffer

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Über die Verwendung von Kalbsmilznährböden in der Bakteriologie.

Seit der systematischen Einführung künstlicher Fleischnährböden zur Züchtung von Bakterien durch Robert Koch hat die Nährbodenbereitung in der Bakteriologie aus dem Bestreben nach Verbesserung und Differenzierung mancherlei Wandlung erfahren. Zu diesen Bestrebungen traten nun noch während der Kriegs- und der Nachkriegszeit, bedingt durch den Mangel an Rohstoffen, insbesondere Fleisch, Bemühungen hinzu, durch Ersatzstoffe und Vereinfachung der Technik den Aufwand an Material und Arbeit zu verringern. Hottinger stellte wohl als erster in vergleichenden Versuchen fest, daß bei der üblichen Fleischwasserbereitung die Nährwerte bei weitem nicht ausgenützt würden. Durch Pankreatinverdauung des Fleisches erhielt er eine Peptone und Aminosäuren enthaltende „Verdauungsbrühe", die neben einer viel besseren Ausnutzung des Fleisches den Zusatz des teuren Peptons ganz überflüssig machte. Baerthlein und Gildemeister konnten bei Nachprüfungen gute Resultate damit erhalten. Während Hottinger Pferde- oder Rinderfleisch als Grundlage beibehielt, hatte man bereits vor ihm wie auch später versucht, einfache, zum Teil pflanzliche Substanzen zu verwenden. Man griff hierbei auf Extrakte und Infuse von Hülsen- und Getreidefrüchten zurück. Im großen ganzen haben jedoch diese Methoden sich im Laboratoriumsbetrieb nicht durchgesetzt, da sie wohl auf Grund ihrer andersartigen Zusammensetzung — Eiweißarmut bei Überfluß an Kohlehydratgehalt im Gegensatz zu den reichlich den notwendigen Stickstoff enthaltenden Fleischnährböden — die gestellten Anforderungen nicht erfüllten. Zwar versuchte man, diesen Mißstand durch Zuführung stickstoffreicher Substanzen, wie Aminosäuren und Amide, zu beseitigen, das bedeutete aber wieder eine Verteuerung und Erschwerung. Besondere Beachtung hat der von Pasteur angegebene Nährboden gefunden, der aus Hefeasche, Aqua dest., weinsaurem Ammon — event. mit Zuckerzusatz — besteht. Aber auch dieser Nährboden hat sich nur für gewisse Sonderzwecke vorteilhaft bewährt und konnte in ähnlicher Form gerade in letzter Zeit bei „Verwendungsstoffwechsel"-Versuchen (Braun u. a.) erfolgreich an-

gewandt werden, für den allgemeinen Gebrauch erwies er sich aber als unzulänglich.

Zum tierischen Eiweiß zurückkehrend, suchte man aus Gründen einer planmäßigen Ökonomie und Betriebsvereinfachung fertige, fabrikmäßig hergestellte Präparate anzuwenden oder aufzufinden. So fanden z. B. Liebigs Fleischextrakt, Ragitagar nach Marx, Nährstoff Heyden, Maggi, Ochsena vielfach Eingang in die Praxis. Zur Entbehrlichmachung des teuren und selten gewordenen Fleisches bemühte Szasz sich, Blut einzuführen, Löffl nahm Blutplasma und empfiehlt es besonders zur Herstellung eines Nährbodens für Massenkulturen; dabei konnte er, wie der oben erwähnte Hottinger, das Pepton entbehren. Ersatzschaffung für Pepton hat überhaupt mit zunehmender Verteuerung eine immer größere Rolle gespielt. Vorschriften zur Selbstbereitung von Pepton hat Frieber gegeben, ferner Bramigk u. a. Verwendet wurden in erster Linie Abfälle von Blutkuchen, die einer peptischen Verdauung ausgesetzt wurden. v. Gutfeld stellte Pepton aus gebrauchten „Löfflerserum-Platten" her. Sobel verwendete Bier, in dem er nach Entfernung des Alkohols durch Kochen einen brauchbaren Ersatz der Fleischnährböden fand; auch in diesem erübrigte sich ein Zusatz von Pepton. Einen besonders breiten Raum nahmen die Versuche mit Hefe als Nährsubstrat ein. Gaßner nahm Bierhefe (getrocknet von E. Merck in den Handel gebracht), Guggenheimer untergärige Bierhefe. Kammann arbeitete ein Verfahren aus, um aus Hefe einen Extrakt und ein Pepton zu gewinnen (Patentschrift Nr. 307831, Klasse 30M Gruppe 14). Jötten, der ausführliche Nachprüfungen der verschiedenen Hefenährmedien angestellt hat, kann die Gaßnerschen Hefenährböden nicht als den Fleischnährböden gleichwertig bezeichnen, während er die Kammannschen als durchaus befriedigend erklärt. Er selbst hat in autolysierten Bierhefeextrakten einen Stoff gefunden, mit dem er gute Erfolge zu verzeichnen gehabt hat. Später sind solche trockenen Hefeextrakte mit Pepton und Kochsalz vermischt in den Handel gekommen (Cenovis Nährbodenpulver) und von Brandl z. B. für die meisten Bakterien den Fleischwasserpeptonnährmitteln an Brauchbarkeit gleichgesetzt worden.

In besonders folgerichtiger Weise hat Kuczinski den Weg verfolgt, diejenigen Stoffe chemisch zu ermitteln und, soweit möglich, rein zu gewinnen, die die eigentlichen wachstumsfördernden Bestandteile eines optimalen Nährbodens darstellen. In ausführlichen Vergleichsversuchen erwies sich ihm und Ferner ein Gemisch aus Aminosäuren und Aminosäurekomplexen als den Fleischwassernährböden gleichwertig. Das Pepton ersetzte er durch ein von ihm gefundenes Kaseinpepton „Wachstumspepton", das er in einer Konzentration von 1% dem verwendeten Nährsubstrat zusetzt. Dieses

Pepton versagte nur bei der Toxingewinnung. Es gelang ihm nach diesem Prinzip, fertige Trockennährböden herzustellen, die von der Firma E. Merck, Darmstadt, in den Handel gebracht werden.

Man wird bei vielen der „synthetischen" Nährböden[1]) nicht vergessen dürfen, daß den Anstoß zu ihrer Darstellung nicht so sehr der Wunsch nach Verbesserung als der nach Verbilligung gewesen ist und daß man in besseren Zeiten ganz von selbst wieder den Weg zu „natürlicheren" Nährböden zurückfinden wird. Man wird sich dabei bewußt bleiben, daß die angewandte Mühe nicht vergeblich gewesen ist, vielmehr höchst wichtige Erkenntnisse von bleibendem Werte geschaffen wurden. Aber für die bakteriologische Praxis wird man sich doch überzeugt dem Standpunkt anschließen müssen, den Ungermann in seiner Studie über die „Ernährung und Züchtung der Mikroorganismen" (Kraus und Uhlenhuth, Handb. d. mikrobiol. Technik 1923 Bd. 1 S. 740 Z. 5—9 v. u.) entwickelt, wo es heißt: „Für das exakte Wissen ist die Möglichkeit, ein Nährbodenrezept chemisch zu formulieren, eine befriedigende Tatsache. Aber die Mikroorganismen befinden sich in den bunten, der chemischen Definierung noch verschlossenen Stroffgemischen, die das Eiweiß und seine Abkömmlinge darstellen, entschieden wohler." Es war daher für uns von großem Interesse, aus einem Referat in den Compt. rendus des séances de la soc. de biol. Bd. 90 Nr. 15 S. 1164/65 über „Milieux de culture simplifiés" zu ersehen, daß Proca mit einem von ihm beschriebenen, in der Herstellung sehr einfachen Nährboden aus Kalbsmilz den Weg zur natürlichen Nährbodengewinnung zurückgefunden hat. Die guten Erfolge, die Proca bei Verwendung seines Nährbodens angibt, erschienen uns durchaus glaubhaft und gaben Veranlassung, eine Nachprüfung in größerem Umfange vorzunehmen, deren Ergebnisse im folgenden niedergelegt sind.

Wir gingen bei der Prüfung des Kalbsmilznährbodens davon aus, daß bei der Beurteilung der Leistungsfähigkeit eines Nährbodens nicht nur die Üppigkeit des Bakterienwachstums von Bedeutung ist, sondern daß besonderes Augenmerk auch auf die Ausbildung aller anderen biologischen Funktionen der gewachsenen Bakterien zu richten ist.

Die Herstellung des Nährbodens geschieht nach Proca in folgender Weise. Man bringt 400 g des frischen, in kleine Stücke geschnittenen Organs in einen Kolben mit 1 l Ringerlösung; der Kolben wird darauf $^1/_2$ Stunde im Autoklaven bei 115° gehalten, anschließend durch Papier filtriert, der Inhalt auf Reagenzgläser verteilt und nochmals im Autoklaven sterilisiert. Die

[1]) Im Literaturverzeichnis befindet sich eine vollständige Zusammenstellung, da der Übersichtlichkeit halber viele Nährböden, die praktisch keine Bedeutung gewonnen haben, hier unerwähnt geblieben sind.

Reaktion soll $p_H = 7{,}1$ betragen und bedarf nach Proca keiner weiteren Korrektur. Bei Verwendung von festen Nährböden nimmt man zu 1 l Milzbouillon 14 g Agar, für Gelatine 10 Teile auf 100. Proca fand bei der Durchprüfung der wichtigsten Mikroorganismen, auch schwerer zu züchtenden, z. B. Meningococcen, auf so hergestellten Nährböden sehr üppiges Wachstum. Trotzdem wir uns genau an die Procasche Vorschrift hielten, fanden wir doch hier einen zu geringen p_H-Wert. Während Proca ausdrücklich und als besonderen Vorzug betont, daß keine feinere Einstellung der Säuregrade notwendig ist, gelang es uns niemals, den gewünschten p_H-Gehalt $= 7{,}1$ annähernd zu erzielen. Unsere Milz-Ringerlösung zeigte stets eine schwachsaure Reaktion. Wir sahen uns daher genötigt, die Nährlösung jedesmal auf $p_H = 7{,}1$ einzustellen.

Unsere Versuche erstreckten sich auf die Gruppe der Typhus-Coli-Ruhrbazillen, Diphtheriebazillen, Gruppe der grampositiven Sporenbildner, Gruppe der grampositiven und der gramnegativen Coccen, der hämoglobinophilen Bakterien, der Anaerobier, Farbstoffbildner und schließlich der Protozoen.

Als Vergleichsbasis dienten im Untersuchungsamt gebräuchliche Nährböden. Da aber unter den wirtschaftlichen Schwierigkeiten der letzten Jahre mit dem Zwange zur Benutzung von Ersatzpräparaten die Herstellung der Nährböden nicht mehr so gleichmäßig wie in früheren Jahren, vielmehr an verschiedenen Stellen eine verschiedene ist, mußten wir, wenn anders unsere Ergebnisse allgemeine Gültigkeit haben sollten, auch wenigstens einen fremden Nährboden zum Vergleich heranziehen. Diesen stellte uns in entgegenkommender Weise ein großes Forschungsinstitut zur Verfügung. Nur im Anfang unserer Versuche hatten wir zum Vergleich ausschließlich unseren eigenen Agar. Bei der Ablesung der Ergebnisse wurde, soweit die Beurteilung nur nach dem Augenmaß geschehen konnte, Wert darauf gelegt, daß stets mehrere unbeeinflußte Beobachter das Ergebnis beurteilten. Die bei uns (Westend) hergestellten Nährböden sind im folgenden mit W bezeichnet, die uns von genannter Seite überlassenen mit F, die Kalbsmilznährböden mit K-M.

Colibazillen.

Als ersten Vertreter der Coligruppe prüften wir einen aus einer eingesandten Stuhlprobe gezüchteten Stamm. Er wuchs auf

W-Agar	gut,
K-M-Agar	üppiges, besseres Wachstum als auf W-Agar;

flüssigen Nährmedien:

W-Bouillon gutes Wachstum,
K-M-Bouillon gutes Wachstum, dichter als in W-Bouillon.

Ein zweiter, ebenfalls frisch aus Stuhl isolierter Colistamm ergab bei

W-Agar, F-Agar } gutes Wachstum, gut ausgebildete Kolonien,
K-M-Agar sehr gutes Wachstum in großen Kolonien,
W-Bouillon Trübung,
F-Bouillon dichte Trübung, leichten Bodensatz,
K-M-Bouillon sehr dichte Trübung, dichten Bodensatz.

Präparate der 24stündigen Kultur nach Gram gefärbt:

W-Bouillon gramnegative Stäbchen, ziemlich spärlich, reichlich coccoide Formen,

F-Bouillon gramnegative Stäbchen, gut und kräftig entwickelt, vereinzelt coccoide Formen, ferner Stäbchen mit bipolarer Färbung,

K-M-Bouillon reichlich gramnegative Stäbchen bei Fehlen anderer Formen.

Sämtliche Bouillonröhrchen werden bei Zimmertemperatur stehen gelassen, nach 28 Tagen wird je eine Öse auf W-Agar ausgestrichen, in allen Fällen gutes Wachstum ohne sichtbare Unterschiede. Weitere Versuche mit Colistämmen hatten stets das gleiche Ergebnis, d. h. deutlicher Unterschied zugunsten des Milznährbodens.

Deutlich überragend zeigten sich Milzagar und -bouillon bei Traubenzuckernährböden. Ein hierbei zur Feststellung der fermentativen Eigenschaften in Eijkmanschen Gärkölbchen angestellter Versuch ergab jedoch keinen quantitativen Unterschied der Gasbildung, obwohl das Wachstum im K-M-Bouillonkölbchen deutlich überwog; denn die Gasbildung in Zentimetern gemessen, betrug nach 24 Stunden in der K-M-Traubenzuckerbouillon 6,5 cm, in W-Traubenzuckerbouillon 7 cm. Nach 24 Stunden war in beiden Röhrchen die Gashöhe 10 cm. Mehrfache Wiederholungen ergaben gleiche Resultate.

Es war ferner wichtig, das Verhalten der Colibakterien auf den sogenannten Differenziernährböden zu untersuchen (Milchzucker und Traubenzucker). Aus folgendem Protokoll wird ersichtlich, daß der Milzagar hierbei in Gasbildung und Entfärbung bessere Ergebnisse zeitigte:

W-Milchzucker Gasbildung ++,
K-M-Milchzucker Gasbildung +++,

W-Neutralrottraubenzuckeragar Gasbildung ++, nach 1- und 2 mal 24 Stunden keine Entfärbung,

K-M-Neutralrottraubenzuckeragar Gasbildung +++, keine Entfärbung nach 1 mal, geringe Entfärbung nach 2 mal 24 Stunden.

Da die Bakterien der Coli-Ruhrgruppe in den Arbeiten über das d'Herellesche Phänomen eine große Rolle spielen und wir in einem Bact. Coli Duod. 6445 (Marcuse) einen zu vielen Lysinversuchen benutzten Stamm haben, wurde in einigen Versuchen mit diesem Stamm der Einfluß des Milznährbodens auf die bakteriophage Lyse untersucht; denn die Üppigkeit des Wachstums und die Schnelligkeit der Vermehrung sind beim Ablauf der bakteriophagen Lyse von Bedeutung.

Versuch I.

1 Tropfen Lysin und 2 Tropfen Kultur in gleichzeitig W-Bouillon gebracht, zeigt nach 5 Stunden völlig klare Bouillon (5/+4) im Gegensatz zur leichtgetrübten Kontrolle (5/+2); nach 20 Stunden ist die Bouillon getrübt durch auftretende Sekundärkultur und unterscheidet sich nicht mehr von der Kontrolle.

K-M-Bouillon in gleicher Versuchsanordnung zeigt

nach 5 Stdn. völlige Klarheit (5/+4),
„ 20 „ mäßig starke Trübung im Gegensatz zur stark getrübten Kontrolle (20/+2).

Während im vorstehenden Versuch neben dem lytischen Prinzip noch die hemmende Komponente zur Geltung kommt, da Lysin und sensibler Stamm gleichzeitig eingeimpft wurden, sollte eine weitere Anordnung den lytischen Vorgang in K-M-Bouillon im besonderen demonstrieren. Zu diesem Zweck wurde das Lysin in eine bereits gewachsene Kultur eingeimpft, die Bouillon wurde mit relativ großer Menge (4 Tropfen) einer 18stündigen Kultur des sensiblen Stammes beschickt. Nach 3 Stunden war deutliches Wachstum vorhanden. Zu diesem Zeitpunkt wurde dem Röhrchen 1 Tropfen hochwertiges Lysin zugefügt und das Resultat nach 3, nach 6 und nach 20 Stunden abgelesen. Die Versuche wurden mit W-Bouillon, F-Bouillon und K-M-Bouillon angesetzt.

Der Versuch wird durchgeführt mit Coli 921 und Lysin F 921. Die Bouillon wird beimpft mit je 4 Tropfen einer 18 Stunden alten F-Bouillonkultur 921; die Lysinbeschickung erfolgt mit je 1 Tropfen Lysin.

I. Fleischbouillon.

I.	Ia.	Ib.
Kontrolle 4 Tropfen 18 Stdn. alter Kultur in Bouillon	nach 3 Stdn. Wachstum 1 Tropfen Lysin	Lysin und Kultur gleichzeitig
nach 3 Stdn. getrübt	nach 3 Stdn. getrübt	nach 3 Stdn. + 4
„ 6 „ „	„ 6 „ + 3/4	„ 6 „ + 3
„ 20 „ „	„ 20 „ + 3	„ 20 „ + 2

II. K-M-Bouillon.

II.	IIa.	IIb.
Kontrolle 4 Tropfen 18 Stdn. alter Kultur in K-M-Bouillon	nach 3 Stdn. Wachstum 1 Tropfen Lysin	Lysin und Kultur gleichzeitig
nach 3 Stdn. getrübt	nach 3 Stdn. getrübt	nach 3 Stdn. + 4
„ 6 „ „	„ 6 „ + 3/4	„ 6 „ + 3
„ 20 „ „	„ 20 „ + 3	„ 20 „ + 2

Auch dieser Versuch zeigt, daß die K-M-Bouillon sich der F-Bouillon gleichwertig erweist. Wie die Versuche Ib und IIb zeigen, geht in beiden Medien Hemmung, und wie aus Versuch Ia und IIa sich erweist, Hemmung und Lyse durchaus parallel.

Neben der guten Wirksamkeit bietet die K-M-Bouillon noch den Vorteil sehr geringer Eigenfärbung. In dem hell durchscheinenden Röhrchen sind schon feinste Trübungen deutlich sichtbar und gestatten eine sehr exakte Ablesung. Auch im Plattenverfahren erzielten wir sehr befriedigende Ergebnisse, wobei die Bildung der „tâches vierges" besonders schön zutage trat.

Wie an anderer Stelle mitgeteilt ist[1]), wurde der Colistamm 6445 durch ein Y-Serum hoch agglutiniert. Unsere Untersuchung erstreckte sich daher auch auf die Prüfung der Agglutinabilität des auf Milzagar gewachsenen Coli 6445. Das agglutinierende Y-Serum hatte zur Zeit unserer Versuche den Titer 1:25000 für den Immunisierungsstamm und agglutinierte den Colistamm bis 1:4000.

Bei diesen wie auch bei den späteren Agglutinationsversuchen erfolgt die Ablesung

1. nach 2stündigem Aufenthalt im Brutschrank,
2. nach 20stündigem Stehen bei Zimmertemperatur. Diese Resultate in der Tabelle in ().

---

[1]) Marcuse, Zeitschrift für Hygiene 1925.

Wir verstehen unter:

++++ = grobe, fetzenartige Flocken,
+++ = grobe Flockung,
++ = deutlich dichte Flockung,
+ = feine, aber deutlich sichtbare Flockung,
± = deutliche feine Flockung bei Lupenablesung.

Das Ergebnis der Agglutination zeigt Tabelle 1.

Tabelle 1.

	100	500	1000	2000	4000
W-Kultur	++ (++)	++ (++)	+ (+)	+ (+)	+ (+)
K-M-Kultur. . . .	++++ (++++)	++++ (++++)	+++ (+++)	+ (++)	+ (+)

Typhusbazillen.

Auch hier auf Milznährböden weit üppigeres Wachstum. Bei Prüfung auf Involutionsformen in flüssigen Medien ergaben Grampräparate nach 24 Stunden bei

W-Bouillon feine gramnegative Stäbchen,
F-Bouillon „ „ „
K-M-Bouillon „ „ „

Nach 48 Stunden bei

W-Bouillon treten coccoide Formen auf,
F-Bouillon gleichmäßige Stäbchen,
K-M-Bouillon Andeutung von Fädenbildung, große, plumpe Formen.

Nach 5 Tagen bei

W-Bouillon zeigt sich deutliche Fädenbildung,
F-Bouillon wie nach 48 Stunden,
K-M-Bouillon „ „ „ „

Von biologischen Prüfungen setzten wir bei diesen Stämmen wegen ihrer Bedeutung für die diagnostischen Seroreaktionen in großem Umfange Agglutinationsprüfungen an. Die Versuche erstreckten sich auch auf die Frage der Mitagglutination. Nachstehende Tabelle diene als Beispiel. Der benutzte Typhusstamm war ein Sammlungsstamm von guter Monovalenz. Man erkennt, daß die Monovalenz durch Züchtung auf Milznährboden keine Einbuße erlitt.

Tabelle 2.

a) Typhusserum, Titer 1 : 10000.

	100	500	1000	2000	4000	80000	10000
W-Züchtung . . .	+ (+)	+ (+)	+ (+)	+ (+)	+ (+)	+ (+)	± (+)
K-M-Züchtung . .	++/+++ (+++)	+++ (+++)	++ (+++)	++ (+++)	+/++ (++)	+ (+/++)	+ (+)

b) Paratyphus-B-Serum, Titer 1 : 2000.

	100	500	1000	2000
W-Züchtung . . .	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
K-M-Züchtung . . .	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)

Paratyphusbazillen.

Der Stamm Paratyphus B Seydlitz ergibt bei

W-Agar	gutes Wachstum,
K-M-Agar	gut, besser als auf W-Agar;
W-Bouillon	diffuse Trübung,
K-M-Bouillon	dichtere Trübung als in W-Bouillon.

Dieselben Resultate ergab der Paratyphus-B-Stamm, der frisch aus dem Stuhl des in der Rekonvaleszenz befindlichen Patienten gezüchtet war. Die Wallbildung nach 48 Stunden war auf dem K-M-Agar besonders schön ausgeprägt.

Agglutinationsversuch mit Paratyphus-B-Stamm So.

Tabelle 3.

Paratyphus-B-Serum, Titer 1 : 2000.

	100	500	1000	2000
W-Züchtung . . .	+++ (++++)	+ (+)	— (—)	— (—)
K-M-Züchtung . . .	++++ (++++)	++ (++/+++)	+ (+)	± (±)

Da der Stamm So. für ein aus dem Stuhlmaterial gewonnenes Lysin hochempfindlich war, wird in oben beschriebener Weise der Lysin-

versuch durchgeführt, bei dem sich die bereits bei Coli gemachten Beobachtungen bestätigten.

Bacillus „Gastro-enteritis Breslau“ (Flügge-Kaensche).

Wachstumsverhalten auf W- wie auf K-M-Bouillon und Agar ergab dasselbe Bild wie bei den bisher beschriebenen Stämmen.

Agglutinationsversuch.

Tabelle 4.

a) Gastro-enteritis-Breslau-Serum.

	100	500	1000	2000	4000	8000
W-Züchtung	+++ (+++/++++)	++/+++ (+++)	++ (++)	+ (++)	(+) (+)	— (—)
K-M-Züchtung	+++ (+++/++++)	+++ (+++)	++/+++ (+++)	++ (++/+++)	++ (++)	+ (+/++)

b) Paratyphus-B-Serum.

	100	500	1000	2000
W-Züchtung . . .	++/+++ (+++)	+ (+)	— (—)	— (—)
K-M-Züchtung . . .	+/++ (++/+++)	+ (+)	— (—)	— (—)

c) Typhusserum.

	100	1000
W-Züchtung . . .	+ (±)	— (—)
K-M-Züchtung . . .	— (—)	— (—)

Ruhrbazillen.

Von der Ruhrgruppe prüften wir zwei Y-, einen Flexner- und einen Shiga-Kruse-Stamm. Y 7523, Y 313, Flexner R. K., Shiga 153 wuchsen auf Milzagar erheblich besser als auf W-Agar. Die Stämme zeigten auf K-M-Agar ein so außergewöhnlich starkes Wachstum, be-

sonders die Flexner- und Y-Stämme, daß es an Coli-Wachstum erinnerte. Auf Mannit- und Maltose-Milzagar kamen die fermentativen Unterschiede der Ruhrstämme betr. Säurebildung gut zum Ausdruck. Für sämtliche vier Stämme besitzen wir die homologen Bakteriophagen. Die Ergebnisse des Lysinversuchs glichen den früher beschriebenen.

Auch bei den Ruhrstämmen gab ihre Bedeutung für die Serodiagnose der Ruhr einerseits, ihre weitgehende Neigung zur Mitagglutination andererseits Veranlassung zu ausgedehnten Agglutinationsprüfungen. Beispiele in Tabelle 5, 6 u. 7. Wie nachfolgende Tabelle lehrt, findet sich auch hier meist ein Überwiegen der Agglutinabilität der K-M-Stämme gegenüber den W-Stämmen, ohne daß nachteilige unspezifische Reaktionen aufgetreten wären.

Tabelle 5.

Agglutination eines Flexner-Stammes mit

a) Flexner-Serum, Titer 1 : 6400.

	100	1000	2000	4000	8000
W-Züchtung . .	+++ (+++/++++)	+++ (+++)	+ (++)	+ (±)	— (±)
K-M-Züchtung .	++++ (++++)	++ (+++)	+ (++)	— (+)	— (—)

b) Y-Serum, Titer 1 : 6400.

	100	1000	2000	4000	8000
W-Züchtung	+++ (++++)	++ (+++)	+ (+)	± (±)	— (—)
K-M-Züchtung . . .	++++ (++++)	+++ (+++)	+ (+)	— (±)	— (—)

c) Shiga-Serum, Titer 1 : 6400.

	100	1000	2000	4000	8000
W-Züchtung	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
K-M-Züchtung	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)

Tabelle 6.

Agglutination eines Y-Stammes durch Y-Serum.

	100	500	1000	2000	4000	8000
W-Züchtung	++/+++ (++++)	+++ (+++)	+ (++)	+ (++)	— (+)	— (±)
K-M-Züchtung . . .	++/+++ (+++/++++)	++ (++++)	++ (+++)	++ (+++)	+ (++)	— (+)

Tabelle 7.

Agglutination eines Shiga-Stammes durch Y-Serum.

	100	500	1000	2000	4000	8000
W-Züchtung	+ (+)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)
K-M-Züchtung	+ (+)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)

Eine ausführliche Besprechung erfordert die Eignung von Kalbsmilz zur Herstellung der in der Stuhldiagnostik gebräuchlichen Differenziernährböden nach Endo und v. Drigalski.

Wir benutzten den Drigalski-Agar mit und ohne Kristallviolettzusatz und konnten dabei feststellen, daß in allen Fällen bei Ruhr, Typhus und Paratyphus B auf Milznährböden üppiges Wachstum in blauer Farbe erfolgte, Bact. Coli wuchs rot. Durch das äußerst üppige Wachstum der pathogenen Keime ging aber der spezifische Wachstumstypus dieser Arten verloren; denn während auf dem gewöhnlichen Drigalski-Agar die Kolonien der pathogenen Keime durch Feinheit, Klarheit, Durchsichtigkeit von den Colikeimen leicht unterscheidbar sind, machte das üppige Wachstum auf Milzagar sie den Colikolonien im Aussehen fast völlig gleich. Paratyphus B und helle Colikolonien ließen sich nach 24 Stunden überhaupt nicht differenzieren, eine Entscheidung war erst nach einigen Tagen möglich auf Grund der Wallbildung des Paratyphus. Dasselbe Bild zeigte die Verwendung von Milz-Endo-Agar. Hier bildete selbst ein stärker fermentierender Coli keine intensive Rotfärbung, geschweige denn ein heller Coli. Der Vorteil des wieder besonders üppigen Wachstums auch der pathogenen Arten geriet der Differenzierung zum Nachteil. Erwähnt sei noch, daß die an und für sich geringe Rotfärbung eines stark fermentierenden Coli in den nächsten Tagen vom Zentrum aus abnahm und sich nach 3 mal 24 Stunden unter starkem Schwärmen ein grauer farbloser Rasen

ausbildete. Öftere Wiederholung dieser Versuche änderte nichts an den unbefriedigenden Ergebnissen.

Es gelang uns, diesen Nachteil der Milznährböden dadurch zu beheben, daß wir, von der vorschriftsmäßigen Herstellung abweichend, den zur Verwendung gelangenden Milzbouillonanteil herabsetzten. Nimmt man statt der vorgeschriebenen Menge nur $^2/_5$ Milzbouillon, die man mit $^3/_5$ Ringerlösung verdünnt, so erhält man Differenziernährböden, die an Brauchbarkeit den üblichen Fleischwassernährböden nicht zurückstehen.

Für die sogenannte bunte Reihe leistet der Milznährboden wiederum Ausgezeichnetes. Wir fanden, daß die Gasbildung bei den entsprechenden Stämmen in typischer Weise und quantitativ erheblich stärkerem Maße auftrat als in den Kontrollen. Besonders schön war die Entfärbung des K-M-Neutralrottraubenzuckeragars bei Coli- und Paratyphuswachstum. Ebenso erwies sich — wie schon erwähnt — der K-M-Agar als hervorragend für die Differenzierung der Ruhrgruppe in Form von Mannit- und Maltose-Agar, da hier bei sehr gutem Wachstum intensive Verfärbung des Nährbodens auftrat.

Es war von Interesse, im Rahmen der Ruhr-Coligruppe die K-M-Bouillon als Grundlage für die Indolbildung auszuprobieren. Da nach Proca sich der Zusatz von Pepton erübrigt, lag es nahe, peptonartige Körper in der K-M-Bouillon zu vermuten, die dann als Ersatz für Peptonwasser zur Indolprüfung direkt benutzt werden könnte. Die Versuche fielen völlig negativ aus, da in der K-M-Bouillon selbst bei mehrtägiger Bebrütung keine Indolreaktion nach Ehrlich festzustellen war, während sie bei den Peptonwasserkontrollen prompt eintrat.

An dieser Stelle möchten wir den Versuch mit Bacterium Proteus einfügen, der ja in weiterem Sinne im System den gramnegativen Stäbchen der Coligruppe zuzurechnen ist. Wir benutzten mehrere Proteusstämme, die frisch aus Stuhl, Urin und Sektionsmaterial gezüchtet wurden, und einen X 19-Stamm unserer Sammlung. Die Resultate der Kulturen sprachen in allen Versuchen eindeutig für den Vorrang der Milznährböden, was im Schwärmvermögen der Stämme deutlich zum Ausdruck kam. Als Beispiel sei ein Versuchsprotokoll mit X 19 angeführt.

In 3 Petrischalen von gleicher Größe werden K-M-Agar, W-Agar und F-Agar gegossen. Die Aufimpfung erfolgt in einem Impfstrich auf der Mitte der Platte. Nach 5 Stunden zeigt sich auf der K-M-Platte bereits ein deutlicher Kulturrasen mit Andeutung von Schwärmen, während auf den anderen Platten geringes Wachstum im Impfstrich sichtbar ist. Nach 8 Stunden ist $^1/_3$ der K-M-Platte überschwärmt, bei W-Agar kann man

nur mit der Lupe an einzelnen Stellen Beginn des Schwärmens feststellen. Auf der F-Platte hat sich der Impfstrich zu deutlicherem Rasen ausgewachsen, der aber keinerlei Anzeichen von Schwärmen erkennen läßt. Nach 11 Stunden ist fast die ganze K-M-Platte überschwärmt. W-Agar zeigt um den Impfstrich herum nicht üppiges, aber sehr deutlich entwickeltes Schwärmen, auf der F-Platte kann man mit der Lupe beginnendes Schwärmen feststellen. Nach 22 Stunden ist die K-M-Platte völlig überschwärmt, der Schwärmrasen zeigt dickes wolkiges Aussehen. Bei W-Agar ist fast die ganze Platte von Schwärmrasen überdeckt, der freilich erheblich zarter als auf K-M-Agar ist. F-Agar weist jetzt gut ausgebildeten Schwärmrasen auf, der sich 1—1½ cm vom Impfstrich erstreckt.

Die Versuche zeigen am Beispiel des Bacterium Proteus also deutlich, daß im Nährwert der K-M-Agar bei weitem an der Spitze steht. Wie bekannt ist, tritt die H-Form an Stellen günstiger Lebensbedingungen auf, während die O-Form meist ein Zeichen von Kümmerwachstum ist. In der allgemeinen bakteriologischen Praxis ist freilich das üppige Wachstum des Bacterium Proteus meist kein Gewinn, da es bei Isolierungen störend und erschwerend wirkt.

Als Vertreter der grampositiven Sporenbildner wählten wir den Bacillus subtilis und Bacillus anthracis.

Heubazillen.

Zur Prüfung werden Heubazillen verwendet, die auf einer Löffler-Serum-Platte aus einem Rachenabstrich gewachsen waren. Hier begnügten wir uns mit einer kurzen Vergleichsprüfung zwischen W- und K-M-Nährmedien. In K-M-Bouillon zeigte sich nach gleicher Einsaat erheblich dichteres Wachstum und dichterer Bodensatz als in der W-Bouillon, in der gutes Wachstum stattfand.

Grampräparate nach 24 Stunden.

W-Bouillon — die Stäbchen sind plumper, dicker und kürzer als in K-M-Bouillon, liegen meist zu zweien zusammen; es finden sich auch gramnegative Formen.

K-M-Bouillon — dicke grampositive Stäbchen.

Nach 48 Stunden.

W-Bouillon — etwas mehr gramnegative Formen als nach 24 Stunden.

K-M-Bouillon — dicke grampositive Stäbchen uud Kugeln.

Nach 5 mal 24 Stunden.

W-Bouillon — reichlich gramnegative Formen, bei spezieller Sporenfärbung reichlich Sporenbildung nachweisbar.

K-M-Bouillon ziemlich lange grampositive Stäbchen, mäßig viel gramnegative Formen; auch bei spezieller Sporenfärbung ließ sich keine wesentliche Sporenbildung nachweisen.

Weitere, im Laufe der nächsten Wochen angefertigte Grampräparate ließen auch in K-M-Bouillon das allmähliche Zunehmen der Versporung erkennen. Die Plattenversuche, die makroskopisch keine wesentlichen Unterschiede boten, zeigten mikroskopisch auf den Milznährböden wiederum späteren Eintritt der Sporenbildung.

Milzbrandbazillen.

(Sammlungsstamm.)

In flüssigen Nährmedien zeigt sich nach Einsaat gleicher Mengen in

W-Bouillon (24 Stunden)	Wachstum	++
F-Bouillon	„	+
K-M-Bouillon	„	+++, dichterer Bodensatz als in W- und F-Bouillon.

Grampräparate nach 48 Stunden aus:

W-Bouillon	gut entwickelte grampositive Stäbchen; auch vereinzelt gramnegative.
F-Bouillon	reichlich gutentwickelte grampositive Stäbchen, in Ketten angeordnet.
K-M-Bouillon	reichlich grampositive Stäbchen in kettenförmiger Anordnung, darunter ziemlich viel gramnegative.

Feste Nährböden:

W-Agar	gutes Wachstum, aber spärlicher als bei den nächsten beiden.
F-Agar	üppiges Wachstum in typischer Form.
K-M-Agar	sehr gutes, dichtes Wachstum.

Überimpfung der Bouillonkulturen, nachdem die Röhrchen drei Wochen bei Zimmertemperatur aufgehoben waren, auf W-Agar zeigt überall gutes Wachstum ohne Unterschied zwischen den einzelnen Ausgangsnährmedien.

Hefe.

W-Agar (24 Stunden)	leidliches Wachstum.
K-M-Agar	gutes Wachstum.

Bei weiterer mehrtägiger Beobachtung läßt sich keine Veränderung des Verhaltens feststellen.

W-Bouillon (24 Stunden)	leidliches Wachstum.
F-Bouillon	gutes Wachstum.
K-M-Bouillon	gutes Wachstum.
W-Traubenzuckerbouillon	gutes Wachstum.
K-M- „	sehr gutes Wachstum, besser als in allen anderen.

Davon Grampräparate: Nach 24 Stunden.

W-Bouillon	ohne Besonderheiten.
F-Bouillon	desgl.
K-M-Bouillon	desgl.
W-Traubenzuckerbouillon	große, gut entwickelte Hefezellen.
K-M- „	sehr gut entwickelte Hefezellen.

Nach 48 Stunden:

W-Bouillon	ohne Besonderheiten.
F-Bouillon	desgl.
K-M-Bouillon	desgl.
W-Traubenzuckerbouillon	gut entwickelte Hefezellen, zum Teil gramzweifelhaft.
K-M- „	wie nach 24 Stunden.

Nach 5 mal 24 Stunden.

W-Bouillon	gut entwickelte grampositive, zum Teil aber unregelmäßige Hefezellen.
F-Bouillon	fast nur grampositive, gut entwickelte Hefezellen.
K-M-Bouillon	Befund wie nach 48 Stunden, nur treten mehr Degenerationsformen auf.
W-Traubenzuckerbouillon	gut entwickelte, grampositive Hefenzellen.
K-M- „	sehr gut entwickelte, grampositive Hefezellen, zum Teil Riesenformen.

Zur Prüfung biologischer Fähigkeiten wurde auch hier ein Gärversuch im Eijkmanschen Gärkölbchen mit K-M-Traubenzuckerbouillon und W-Traubenzuckerbouillon angesetzt. Hier zeigte sich in Übereinstimmung mit dem besseren Wachstum auf K-M-Nährböden auch vermehrte Kohlensäurebildung:

Gashöhe in cm nach 24 Stunden 3,5 : 1
„ 48 „ 20 : 12,5.

Gruppe der grampositiven Coccen.

Staphylococcus aureus.

Der Stamm wurde frisch aus dem Untersuchungsmaterial (Abszeß) gezüchtet.

Flüssiger Nährboden:

W-Buoillon	Wachstum +
F-Bouillon	„ ++++
K-M-Bouillon	„ +++/++++

Grampräparate aus

W-Bouillon	gut entwickelte, nicht sehr zahlreiche, einzelliegende grampositive Staphylococcen,
F-Bouillon	reichlich gut entwickelte Staphylococcen in typischer Anordnung,
K-M-Bouillon	wie in F-Bouillon.

Feste Nährböden:

W-Agar (24 Stunden)	gutes Wachstum, gute Farbstoffbildung,
F-Agar	gut entwickelte Kolonien, gute Farbstoffbildung,
K-M-Agar	sehr gut entwickelte Kolonien mit sehr guter Farbstoffbildung.

Auch K-M-Schrägagarkulturen zeigen gutes Wachstum und schöne Farbstoffbildung.

Ein zweiter frischgezüchteter Staphylococcenstamm (Nr. 830) wird nach gleicher Einsaat auf flüssigen Nährböden geprüft unter Hinzuziehung von Traubenzuckerbouillon.

F-Bouillon	diffuse Trübung mit Andeutung leichter Flockenbildung,
K-M-Bouillon	dichte Trübung, Kuppe von dichtem Bodensatz bedeckt,
F-Traubenzuckerbouillon	diffuse Trübung und dichte Flockung,
K-M- „	stärkste Trübung und Flockung, ganz dichter Bodensatz, der weit die Kuppe überragt.

An einem dritten, aus einer Blutaussaat frisch gezüchteten hämolytischen Staphylococcus aureus, der sich in allen Bouillonnährmedien wie die vorstehend beschriebenen Stämme verhielt, wird auf Hammelblutplatten das Verhalten der Hämolyse auf Milznährböden geprüft. Im Ausstrich auf einer K-M-Agar-Blutplatte zeigt sich große kräftige Kolonieentwicklung mit starker Farbstoffbildung und Hämolyse, während auf der entsprechenden W-Kontrollplatte zwar auch gut entwickelte Kolonien mit angedeuteter Farbstoffbildung wachsen, die Hämolyse jedoch bedeutend geringer ist. Zur Ergänzung wurden

auch Blutgußplatten mit äußerst geringer Einsaat angelegt. Nach 24 Stunden war auf beiden Platten kein Wachstum zu bemerken, nach 48 Stunden trat geringes Wachstum auf, wobei die Kolonieform auf der K-M-Agar-Blutplatte bedeutend besser entwickelt war und sich durch erheblich stärkere Hämolyse auszeichnete.

Das Überwiegen der Hämolyse auf den Milznährböden veranlaßte uns, die Gewinnung von Staphylolysin, das wir bei unseren Antistaphylolysinreaktionen gebrauchen, zu versuchen. Wir prüften 11 auf der Platte hämolysierende Staphylococccenstämme, konnten jedoch in keinem Falle auf K-M- oder W-Agar ein hochwertiges Staphylolysin gewinnen. Die vergleichenden Versuche mußten daher zurückgestellt werden, bis wir in den Besitz eines guten Staphylolysinbildners gelangen.

Streptococcen.

Die geprüften Streptococcenstämme waren in allen Fällen frisch gezüchtet.

Streptococcus haemolyticus I.

W-Bouillon	spärliches Wachstum mit spärlichem Bodensatz nach 24 Stunden. Nach 48 Stunden ist der Bodensatz gering vermehrt.
K-M-Bouillon	Wachstum nach 24 Stunden in dichtem Bodensatz; nach 48 Stunden erheblich vermehrt.
W-Traubenzucker-Bouillon	nach 24 Stunden gutes Wachstum, nach 48 Stunden Zunahme.
K-M- „	ebenfalls nach 24 Stunden gutes Wachstum mit dichtem Bodensatz; hier zeigt sich nach 48 Stunden eine besonders auffällige Wachstumsvermehrung.

Der Versuch wird mit einem zweiten Stamm (Strpt. haem. II) unter Hinzuziehung von F-Bouillon wiederholt:

W-Bouillon	sehr spärliches Wachstum, geringer krümeliger Bodensatz.
F-Bouillon	spärliches Wachstum.
K-M-Bouillon	gutes Wachstum, dichter Bodensatz.
W-Traubenzuckerbouillon	gutes Wachstum, etwas krümeliger Bodensatz.
F- „	gutes Wachstum, Bodensatz spärlicher als bei W-Traubenzuckerbouillon.
K-M- „	sehr gutes Wachstum, weitaus am besten von allen Bouillonarten.

Feste Nährböden:

W-Agar	zartes Wachstum,
F-Agar	gutes Wachstum,
K-M-Agar	sehr gutes Wachstum.

Auf Blutausstrichplatten (Menschenblut):

W-Agar	gutes Wachstum, gute Hämolyse, jedoch geringer als auf
K-M-Agar	sehr gutes Wachstum, sehr starke Hämolyse, schon nach 24 Stunden, bei weiterem Stehen bei Zimmertemperatur ist die Hämolyse nach 48 Stunden noch weiter fortgeschritten.

Blutgußplatten:

K-M-Agar-Blutgußplatte	bei reichlicher Einsaat üppiges Wachstum in großen Kolonien mit ausgesprochener Methämoglobinbildung. Nach 3 mal 24 Stunden ist die Hämolyse noch bedeutend weiter fortgeschritten. Das Hämoglobin ist fast ganz verschwunden.
W-Agar	alle Erscheinungen weniger ausgeprägt.

Besonders hervorgehoben sei das frühzeitige Auftreten sichtbarer Kolonien in Blutgußplatten bei Verwendung von Milzagar. In einer Zeit, wo auf den anderen Blutplatten noch keine Andeutung von Wachstum wahrnehmbar war, oft schon nach 8 Stunden, zeigten sich auf der Milzagar-Blutplatte bereits Kolonien.

Streptococcus anhaemolyticus I (vergrünend)[1]).

W-Bouillon	spärliches Wachstum mit geringem Bodensatz.
K-M-Bouillon	spärliches Wachstum, etwas besser als in W-Bouillon.
W-Traubenzuckerbouillon	gutes Wachstum.
K-M- „	sehr gutes Wachstum.

Die Grampräparate waren ohne Besonderheiten.

Ausstrich auf Blutplatte (Menschenblut):

W-Agar	zartes, feines Wachstum, keine Veränderung des Nährbodens.
K-M-Agar	gutes, kräftiges Wachstum. Sehr gut entwickelte Kolonien mit grünlicher Verfärbung.

Streptococcus 423 (Haemolyticus)[1]).

W-Traubenzuckerbouillon	Wachstum in diffuser Trübung und feinstgekörntem Bodensatz.
F- „	besseres Wachstum als in W-Traubenzuckerbouillon unter besserer Flockenbildung.
K-M- „	bedeutend größerer Bodensatz, Flocken sind größer und dichter als vorstehend.

[1]) Ablesung erfolgte nach 24 Stunden.

Streptococcus B (Haemolyticus).

Wachstum nach 24 Stunden.

W-Traubenzuckerbouillon diffus getrübt mit gutem Bodensatz; die Trübung besteht aus feinsten Körnchen.

F- „ Die Bouillon ist fast klar bis auf allerfeinste Körnchen; guter Bodensatz.

K-M- „ dichter, voluminöser Bodensatz; die überstehende Bouillon ist von groben Flocken getrübt.

Streptococcus Haemolyticus II.

Ausstrich auf W-Agar-Blutplatte (Hammelblut).
Nach 24 Stunden gutes Wachstum in kleinen, leicht vergrünenden Kolonien; nach 48 Stunden gute Hämolyse.

„ „ K-M-Agar-Blutplatte.
Nach 24 Stunden sehr gutes Wachstum in großen, vergrünenden Kolonien; nach 48 Stunden gute Hämolyse.

W-Agar-Blutgußplatte (spärliche Aussaat) Nach 20 Stunden sehr klare, hämolysierende Kolonien; eine größere Anzahl von Kolonien bleibt ohne Hämolyse.

K-M-Agar-Blutgußplatte Nach 20 Stunden kleine Kolonien, nur vereinzelt ohne Hämolyse.

Streptococcus Anhaemolyticus II.

Ausstrich auf W-Agar-Blutplatte nach 24 Stunden
kleine, anhämolytische Kolonien, die sich nach 48 Stunden vergrößern.

„ „ K-M-Agar-Blutplatte nach 24 Stunden
gutes Wachstum, wobei sich die Kolonien besser und schneller als auf W-Agar entwickeln und einen leichtgrünlichen Hof zeigen, der sich im Laufe der nächsten Tage verdeutlicht.

W-Agar-Blutgußplatten nach 24 Stunden reichlich kleine, anhämolytische Kolonien.

K-M-Agar-Blutgußplatten nach 24 Stunden reichlich anhämolytische Kolonien, die wesentlich größer als auf W-Agar-Blutgußplatten sind; nach mehreren Tagen keine Veränderung, kein Auftreten von Vergrünung.

Das üppige Wachstum der Streptococcen auf Milznährböden veranlaßte uns, an diesem Beispiel den Einfluß des neuen Nährbodens auf die antigenen, immunisatorischen Fähigkeiten der Bakterien zu prüfen.

Zwei der oben beschriebenen hämolytischen Streptococcenstämme — Str. 423, aus dem Blute eines Sepsiskranken stammend, und Str. B, aus dem Rachenabstrich einer Scharlachangina stammend — wurden in F- und K-M-Bouillon gezüchtet und die beiden Kulturen des jeweiligen Nährbodens gemischt.

Nach Abzentrifugieren der Röhrchen wurde der Bodensatz in Phenol-Kochsalz aufgeschwemmt, dann 1 Stunde bei 55° erhitzt (Kulturkontrolle steril).

Je einem Kaninchen (Nr. 52 und 53) werden als erste Dosis 50 Millionen Keime intravenös injiziert. Ein nichtgespritztes Tier (Nr. 54) diente als Kontrolle.

Die „Freßzahl" der Leukocyten war vor der Injektion bei

Tier 52 . . . 1,9
„ 53 . . . 1,3
„ 54 . . . 1,1

5 Tage nach der ersten Injektion sind die Freßzahlen bei
Tier 52 (F-Züchtung) 3,8 Opsonischer Index = 1,1
„ 53 (K-M- „) 4,3 „ „ = 1,3
„ 54 (Kontrolle) 3,3

Am gleichen Tage Injektion von 100 Millionen Keimen intravenös.

10 Tage: Tier 52 (F-Züchtung) 3,8 Opson. Index = 1,4
„ 53 (K-M- „) 5,2 „ „ = 1,9
„ 54 (Kontrolle) 2,7

Am gleichen Tage Injektion von 150 Millionen Keimen intravenös.

15 Tage: Tier 52 (F-Züchtung) 3,9 Opson. Index = 1,2
„ 53 (K-M- „) 5,0 „ „ = 1,6
„ 54 (Kontrolle) 3,2

Am gleichen Tage Injektion von 200 Millionen Keimen intravenös.

20 Tage: Tier 52 (F-Züchtung) 3,9 Opson. Index = 1,4
„ 53 (K-M- „) 5,4 „ „ = 1,9
„ 54 (Kontrolle) 2,8

Am gleichen Tage Injektion von 300 Millionen Keimen intravenös.

25 Tage: Tier 52 (F-Züchtung) 5,2 Opson. Index = 1,4
„ 53 (K-M- „) 7,8 „ „ = 2,0
„ 54 (Kontrolle) 3,8

Am gleichen Tage Injektion von 500 Millionen Keimen intravenös.

30 Tage: Tier 52 (F-Züchtung) 6,3 Opson. Index = 1,3
„ 53 (K-M- „) 8,7 „ „ = 1,8
„ 54 (Kontrolle) 4,8.

Anmerkung: Die Indexbestimmung wurde nach der von Michaelis im Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle-Wassermann angegebenen Methode ausgeführt.

Das Ergebnis des Versuches wird dadurch beeinträchtigt, daß die verwendeten Tiere an sich schlechte Antikörperbildner waren. Sie entstammen einer Zucht, bei der auch in anderen Versuchen dieser Nachteil störend empfunden wurde. Die Unterschiede sind daher wenig in die Augen fallend, aber doch, wie wir glauben möchten, dadurch nicht ganz belanglos, daß mit Regelmäßigkeit bei allen Prüfungen der Opsonische Index des mit K-M-Bakterien gespritzten Tieres an der Spitze steht, obwohl er vor Beginn der Injektionen hinter dem des F-Tieres zurückstand. Wir sind uns allerdings bewußt, daß zu einem abschließenden Urteil weitere Tierversuche erwünscht wären.

Streptococcus mucosus.

Es standen uns zwei Stämme zur Verfügung, von denen der eine aus einem Rachenabstrich, der andere aus einem Pneumoniesputum gezüchtet war. Während beide Stämme auf W-Agar gutes Wachstum mit typischer Schleimbildung aufwiesen, war das Wachstum auf K-M-Agar nur spärlich vorhanden. Setzte man dem K-M-Agar Ascites in der gewohnten Menge hinzu, so war auch hier üppiges Wachstum zu erzielen. Auf flüssigen Nährböden ließ der „Rachenstamm" sowohl auf K-M- wie auf W-Bouillon nennenswertes Wachstum vermissen, der „Sputumstamm" gab in W-Bouillon mittleres, in K-M-Bouillon etwas besseres Wachstum. Reiches Bakterienwachstum wurde erst durch Zusatz von Ascites erzielt. Die beiden geprüften Stämme waren, wie man sieht, schwer züchtbar. Auch die K-M-Nährböden konnten hier die Schwierigkeiten nicht überwinden.

Pneumococcen.

Verwendet wurde Stamm 210 und Stamm 231 aus frischen Sputen. Sie wuchsen in K-M-Bouillon unter nicht sehr dichter diffuser Trübung, während in W-Bouillon jegliches Wachstum ausblieb. Im Ausstrich auf den K-M- und W-Hammelblutplatten wuchsen die Keime bei guter Koloniebildung unter leicht grünlicher Färbung; auf der K-M-Platte war das Wachstum, auf der W-Platte die grünlich verfärbte Hämolyse nach 24 Stunden besser ausgeprägt; nach weiteren

20 Stunden bestanden gleiche Verhältnisse. Auf den Blutgußplatten machte sich als Vorteil der K-M-Platte bemerkbar, daß die nach 20 Stunden beobachteten Kolonien auf ihr schon groß und grünlich-schwarz waren, während auf der W-Platte Größe und Färbung der Kolonien zu dieser Zeit noch weit zurückstanden.

Zur Prüfung der praktischen Verwendbarkeit der K-M-Nährböden verarbeiteten wir auch einlaufendes Material des Untersuchungsamts, z. B. Sputa auf K-M-Agar und bei Influenzaverdacht auch auf Levinthal-K-M-Agar. Dabei hatten wir Gelegenheit, das Wachstum von Strepto- und Pneumococcen auf K-M-Levinthal-Agar zu beobachten. Eln wesentliches Überwiegen des K-M-Levinthal-Agars über den originalen kam dabei nicht zum Ausdruck.

Gramnegative Coccen.

Gonococcen. Meningococcen.

(Laboratoriumsstämme.)

Bei einer Vorprüfung wurden die Stämme auf W-Agar, F-Agar K-M-Agar und K-M-Levinthal-Agar[1]) in gleichen Mengen ausgestrichen Auf K-M- und F-Agar blieb Wachstum auch nach 3mal 24stündiger Bebrütung aus. Auf W-Agar und W-Levinthal-Agar nur mäßiges Wachstum. Nachdem die Stämme auf W-Schrägagar gebracht und viermal überimpft waren, wird eine Öse in einer Ascites-Bouillonkuppe verrieben, davon wird je eine Normalöse auf folgende Platten verimpft:

1. F-Agar,
2. K-M-Agar,
3. F-Levinthal-Agar,
4. K-M-Levinthal-Agar,
5. F-Agar + Ascites,
6. K-M-Agar + Ascites.

Gonococcen.

F-Agar (24 Stunden)	geringes, mit bloßem Auge gerade erkennbares Wachstum,
K-M-Agar	kein Wachstum,
F-Levinthal-Agar	gutes Wachstum im Rasen und feinste, kleine Einzelkolonien,
K-M-Levinthal-Agar	sehr gutes Wachstum, dichter Rasen, große Einzelkolonien,
F-Ascites-Agar	feiner Rasen, zarte, feine Einzelkolonien,
K-M-Agar + Ascites	dichter Rasen, sehr dichte, große Einzelkolonien.

[1]) vgl. Anm. 1 S. 28 betreffs Herstellung des K-M-Lewinthal-Agars.

Meningococcen.

F-Agar	mäßiges Wachstum, sehr kleine, feine Einzelkolonien,
K-M-Agar	gutes Wachstum in dichtem Rasen,
F-Levinthal-Agar	sehr gutes Wachstum im Rasen, große Einzelkolonien,
K-M-Levinthal-Agar	sehr gutes Wachstum im Rasen, sehr gut entwickelte Einzelkolonien von ca. 2—3 mm ø,
F-Agar + Ascites	dichter, schleimiger Rasen, gut entwickelte Einzelkolonien,
K-M-Agar + Ascites	sehr üppiges Wachstum in dichtem, schleimigem Rasen, sehr dicke, fette Einzelkolonien von 6 bis 7 mm ø. Von allen Platten zeigt diese das weitaus beste Wachstum.

Im Folgenden werden die Gono- und Meningococcen gemeinsam betrachtet. Nach 24stündiger Bebrütung der eben genannten Platten sind die Einzelkolonien auf K-M-Levinthal, F-Agar + Ascites und K-M-Agar + Ascites noch umfangreicher geworden, besonders auf K-M-Ascites sind die Einzelkolonien so gut entwickelt, daß sie verschleimt erscheinen. Hier sind die Meningococcen noch besser entwickelt als die Gonococcen. Nach 3mal 24stündiger Bebrütung und später zeigte sich keine wesentliche Veränderung des Bildes mehr.

Ein weiterer Versuch mit Gonococcen wurde in folgender Weise durchgeführt. Es werden folgende Schrägkulturen des Gonococcenstammes auf folgende Arten von Agarplatten verimpft:

Go. von F-Levinthal-Agar auf W-Agar:
Nach 24 Stunden kein Wachstum,
„ 48 „ Wachstum eben angedeutet.

Go. von F-Levinthal-Agar auf W-Levinthal-Agar:
Weder nach 24 Stunden noch nach 48 Stunden nennenswertes Wachstum.

Go. von K-M-Levinthal-Agar auf W-Agar:
Nach 24 Stunden kein Wachstum,
„ 48 „ gutes Wachstum.

Go. von K-M-Levinthal-Agar auf W-Levinthal-Agar:
Nach 24 Stunden zartes, feines Wachstum,
„ 48 „ gutes, dichtes Wachstum.

Go. von F-Agar + Ascites auf W-Agar:
Nach 24 Stunden kein Wachstum,
„ 48 „ sehr zartes, gerade angedeutetes Wachstum.

Go. von F-Ascites-Agar auf W-Levinthal-Agar:

Nach 24 Stunden kein Wachstum,
„ 48 „ gerade angedeutetes Wachstum.

Go. von K-M-Ascites-Agar auf W-Agar:

Nach 24 Stunden Wachstum gerade angedeutet,
„ 48 „ zartes, feines Wachstum.

Go. von K-M-Ascites-Agar auf W-Levinthal-Agar:

Nach 24 Stunden kein Wachstum,
„ 48 „ gerade angedeutet.

Eine Wiederholungsprüfung nach gleichem Schema hat dasselbe Ergebnis.

Angesichts der guten Ergebnisse mit den K-M-Nährböden haben wir unser Augenmerk auch auf die Beziehungen des üppigen Bakterienwachstums zu den Absterbevorgängen, namentlich zum zeitlichen Eintritt des Absterbens der Kulturen gerichtet. Die Gruppe der kulturell so empfindlichen und anspruchsvollen gramnegativen Coccen schien uns für das Studium dieser Frage besonders geeignet zu sein. Denn wenn überhaupt, so gestatten wohl noch am ehesten die Erfahrungen bei dieser Gruppe eine Verallgemeinerung. Ich möchte aber besonders betonen, daß wir auch bei anderen Keimarten, z. B. bei den empfindlichen Influenzabazillen, diesbezügliche Versuche angestellt und hier ähnliche Ergebnisse erzielt haben.

Was zunächst die Gonococcen anbetrifft, so mußten wir feststellen, daß z. B. bei dem zweiten ausführlich beschriebenen Kulturversuch (s. S. 26) alle Plattenkulturen nach 5 mal 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur nicht mehr fortführbar waren. Bis dahin aber, also noch am 4. Tage nach erfolgter Beimpfung, ließen sich alle Kulturen weiterzüchten.

Der Meningococcenstamm wurde nach mehrfachen Überimpfungen je von einer 8 Tage, 6 Tage und 4 Tage alten Kultur auf W-Agar, K-M-Agar und F-Agar gebracht. Nur die 8 Tage alte Kultur geht auf W-Agar nicht mehr an. Sonst erfolgt überall Wachstum; selbst die 8 Tage alte Kultur wächst auf dem K-M-Agar ohne jeden Zusatz sehr gut, noch besser natürlich die jüngeren. Wir konnten also die wichtige Tatsache feststellen, daß das üppige Wachstum nicht, wie man hätte vermuten können, durch die Erschöpfung des Nährbodens oder giftige Stoffwechselprodukte das Absterben der Kulturen beschleunigte, sondern daß sie sich vielmehr auffallend lange lebensfähig erhielten.

Über das Wachstum der gramnegativen Coccen läßt sich abschließend also sagen, daß der K-M-Agar ohne jeden Zusatz den Gonococcen als Nährsubstrat nicht zu genügen scheint, daß aber die

mit Kalbsmilz hergestellten Nährböden bei Asciteszusatz Gonococcen und Meningococcen üppig gedeihen lassen, und daß die so erzielten Kulturen sich auffallend lange lebensfähig halten.

Influenzabazillen.

Verwendet wurden Influenzastamm Nr. 838 (I) etwa 3 Wochen alt, Influenza (II) frisch aus einer Grippe-Lunge bei einer Sektion gezüchtet, Influenza (III) aus Trachealschleim stammend.

Wachstum von Nr. 1

auf W-Levinthal-Agar[1])	zartes, feines Wachstum,
„ K-M- „ „	gutes, üppiges Wachstum in großen Kolonien.
Bei II und III	der gleiche Befund.

Grampräparate zeigen

bei I Levinthal-Agar	kleine gramnegative Stäbchen,
„ II u. III „ „	kleine coccoide Stäbchen gramnegativ ohne Neigung zur Fädenbildung.

Eine zweite Prüfung zeigte wieder, daß die Influenzabazillen in großen, sehr gut ausgebildeten Kolonien auf K-M-Levinthal-Agar wuchsen, auf W-Levinthal-Agar dagegen in viel kleineren Kolonien. Bei Stamm 838 fiel auf, daß die nach Gram gefärbten Influenzabazillen auf W-Levinthal-Agar verhältnismäßig lange Stäbchen zeigten, auf K-M-Levinthal-Agar mehr coccoide Formen angenommen hatten. Sonst verhielten sich die Stämme gleich.

Auch hier nahmen wir als Kontrolle F-Levinthal-Agar hinzu und prüften einen weiteren frisch gezüchteten Influenzastamm (IV). Die Wachstumsverhältnisse auf K-M-Levinthal-Agar übertrafen auch hier wesentlich den Kontroll-F-Agar, die Grampräparate ergaben etwas zartere Formen der vom Milzagar stammenden Bakterien.

Bei Weiterzüchtung der Stämme nahm die Üppigkeit des Wachstums weiter zu, und zwar auf Milznährböden so sehr, daß das typische Aussehen der Kolonien teilweise verloren ging.

Diphtheriebazillen.

Schon die orientierenden Vorversuche hatten ergeben, daß das Wachstum der Diphtheriebazillen auf festen wie auf flüssigen Milznährmedien sich außerordentlich üppig gestaltete. Die daraufhin systematisch durchgeführten Prüfungen bestätigten dieses Ergebnis. Auf K-M-Bouillon wuchsen die Diphtheriebazillen in dichtem voluminösen Bodensatz, während F-Bouillon und noch mehr W-Bouillon erheblich dahinter zurückblieb. Auch auf den festen Nährböden über-

[1]) Der K-M-Agar ist nur 1,4%ig; wir haben daher die Verdünnung mit Bouillon, die die Originalvorschrift beim Levinthal-Agar vorsieht, unterlassen.

wog das Wachstum auf dem Milzagar in weitestem Maße; während auf den Kontrollen nach 24 und 48 Stunden nur spärliche, zarte Kolonien angingen, fand sich auf dem K-M-Agar ein üppiger Rasen von dicken, grauweißen Kolonien.

Beim Vergleich mit dem elektiven Löfflerschen Serumnährboden erwies sich der K-M-Agar im Wachstum als ebenbürtig. Was aber die Bedeutung des K-M-Agars erheblich einschränkte, war das Fehlen der Babes-Ernstschen Körperchen; während auf Löffler Serum und auch in geringerem Maße auf F-Agar sich nach 24 Stunden Polkörperchen entwickelten, ließen sich diese auf K-M-Agar auch bei verlängerter Bebrütung und auch bei Anwendung des Gins-Verfahrens niemals sichtbar machen. Dieser Mangel schloß die praktische Verwertung des K-M-Agars für die Diphtheriediagnostik als Ersatz des Löffler-Serums aus. Denn da Ausstriche Di-positiver Abstrichtupfer zwar vorzügliches Wachstum, aber keine Polkörperchen zeigten, wurde die Diagnose aus der Mischkultur erheblich erschwert, wenn nicht unmöglich gemacht.

Ausgezeichnete Dienste leistete der K-M-Agar dagegen wieder für die Isolierung verdächtiger Stäbchen, da der Nährboden vor dem Löfflerschen ja den Vorzug der Durchsichtigkeit hat. Schwer war die Isolierung auf K-M-Agar aber wieder dann, wenn neben den Diphtheriebazillen noch Diphtheroide vorhanden waren. War aber ein Stamm erst einmal isoliert, dann konnte der K-M-Agar für alle weiteren biologischen Prüfungen und den Tierversuch wieder vorzugsweise benutzt werden.

Bei der Bedeutung der Toxinbildung in der Bakteriologie der Diphtherie schien uns eine Ausdehnung unserer vergleichenden Prüfungen auf dieses Gebiet erforderlich. Wir bedienten uns hierzu des Römerschen Intracutanverfahrens nach der von M. Neißer angegebenen Methodik.

Je ein Röhrchen K-M-Bouillon und F-Bouillon wird mit einer halben Öse Diphtherie-Stamm 240 beimpft und 48 Stunden bebrütet. Dann werden Verdünnungen 1 : 10, 1 : 100, 1 : 1000 von jedem Röhrchen hergestellt und einem jungen Meerschweinchen rechts die K-M-, links die Kontroll-Bouillon in Menge von je 0,1 ccm intracutan injiziert.

Nach 24 Stunden.

K-M-Bouillon:		F-Bouillon:	
1 : 10	deutliche, derbe Infiltration mit Rötung, Andeutung einer Kokarde von Pfennigstückgröße.	1 : 10	Infiltration, Rötung, die Ausdehnung und der Grad der Infiltration sind erheblich geringer als auf der anderen Seite.

1 : 100	schwach gerötetes Infiltrat, etwa erbsengroß.	1 : 100	geringe Infiltration, fast keine Rötung.
1 : 1000	geringe Schwellung ohne Rötung, gerade noch fühlbare Infiltration.	1 : 1000	ohne Befund.

Im Laufe der nächsten Stunden verstärken sich die Reaktionen unter Erhaltenbleiben der quantitativen Unterschiede.

Nach 48 Stunden.

K-M-Bouillon:		F-Bouillon:	
1 : 10	talerstückgroße, stark gerötete, derbe Infiltration, anscheinend schmerzhaft, im Zentrum ist eine anämische Zone angedeutet.	1 : 10	fünfpfennigstückgroße, ziemlich derbe, anscheinend nicht schmerzhafte Infiltration mit anäm. Zentrum, typische Kokarde.
1 : 100	starke, derbe Infiltration, im Zentrum leicht livide verfärbt, von etwa Zehnpfennigstückgröße.	1 : 100	etwa erbsengroße, knötchenartige Infiltration.
1 : 1000	derbe Infiltration, leichte Rötung mit zentralem anämischen Herd.	1 : 1000	ohne Befund.

Die K-M-Seite des Tieres fühlt sich wesentlich wärmer an, das Allgemeinbefinden scheint nicht übermäßig beeinflußt zu sein; der Befund ist nach 3 mal 24 Stunden im wesentlichen unverändert.

Nach 4 mal 24 Stunden.

K-M-Bouillon:		F-Bouillon:	
1 : 10	an der Injektionsstelle findet sich eine gut zehnpfennigstückgroße Infiltration mit deutlicher Kokarde. Im Zentrum eine fünfpfennigstückgroße Nekrose.	1 : 10	erbsengroße Infiltration mit mäßiger Rötung, im Zentrum Andeutung einer Nekrose.
1 : 100	entspricht der Reaktion 1 : 10 der F-Bouillon.	1 : 100	kaum fühlbares, schwachgerötetes Knötchen.
1 : 1000	gerade noch fühlbare Infiltration.	1 : 1000	o. B.

Nach 5mal 24 Stunden.

K-M-Bouillon:		F-Bouillon:	
1 : 10	die Infiltration hat sich zusammengezogen, ist aber nach wie vor hart.	1 : 10	erbsengroße, derbe Infiltration mit einer kleinen zentralen Nekrose.
1 : 100	wie am Vortage.	1 : 100	o. B.
1 : 1000	o. B.	1 : 1000	o. B.

Nach 6mal 24 Stunden.

K-M-Bouillon:		F-Bouillon:	
1 : 10	das Infiltrat hat sich weiter verdickt, an Ausdehnung aber abgenommen. Es hat sich eine deutliche Demarkationslinie gebildet.	1 : 10	wie am Vortage.

Bei 1 : 100 und 1 : 1000 auf beiden Seiten ist keine Reaktion mehr festzustellen.

Nach 7mal 24 Stunden.

K-M-Bouillon:	F-Bouillon:
Beginn einer zentralen Einschmelzung. Die gesamte Ausdehnung der Reaktion ist etwa fünfmarkstückgroß.	Die Ausdehnung der Reaktion ist etwa zehnpfennigstückgroß und eine Kokarde angedeutet.

Nach 8mal 24 Stunden derselbe Befund.

Nach 9mal 24 Stunden.

K-M-Bouillon:	F-Bouillon:
Im Rahmen der Demarkationslinie beginnt die Abstoßung eines ungefähr zehnpfennigstückgroßen nekrotischen Herdes. Die Infiltration ist derb und hart von mehr als Fünfmarkstückgröße.	Abstoßung einer Zentralnekrose, mäßiges Infiltrat.

Nach 10mal 24 Stunden.

K-M-Bouillon:

Die Nekrose ist weiter fortgeschritten. An einer Stelle zeigt sich ein erbsengroßer fluktuierender Herd, der trübes Sekret entleert. In diesem lassen sich im Neißer-Präparat Diphtheriebazillen nachweisen und auf Löffler-Nährboden in Reinkultur züchten.

F-Bouillon:

Etwa linsengroße verschorfte Nekrose, nach Abheben des Schorfes sieht man trübes, eingedicktes Sekret, in dem sich keine Bakterien nachweisen lassen.

Die Defekte auf beiden Seiten heilen langsam ab. Die „F-Bouillon"-Seite ist nach 4 Wochen völlig normal, während sich zur gleichen Zeit auf der K-M-Seite der Schorf der Nekrose in Einmarkstückgröße erst völlig abstößt. In dem noch darunter befindlichen geringen Sekret fanden sich im Neißer-Präparat ziemlich dicke, plumpe Stäbchen vom Typ der diphtheroiden Bazillen mit deutlichen Polkörperchen. Bei biologischer Prüfung wurde Dextrose vergoren, Saccharose unverändert gelassen. (Umgewandelte Diphtheriebazillen der Einsaat?)

Nachdem die Prüfung mit lebenden Bazillen ein sehr gutes Resultat der K-M-Bouillon gezeitigt hatte, filtrierten wir gleiche Röhrchen wie die eben beschriebenen nach 8tägiger Bebrütung. Das Filtrat wird in Mengen von 0,1 ccm intrakutan einem zweiten Meerschweinchen injiziert.

Nach 24 Stunden.

K-M-Toxin:

Markstückgroße, derbe Infiltration mit starker Rötung, anscheinend nicht sehr schmerzhaft.

F-Toxin:

Zehnpfennigstückgroße Infiltration. Die Rötung ist geringer als auf der andern Seite. Es zeigt sich eine kleine, zentrale anämische Zone von 2 mm ø.

Nach 48 Stunden.

K-M-Toxin:

Talerstückgroße gerötete Infiltration, zentral erbsengroße, livid verfärbte Nekrose, darum ein zehnpfennigstückgroßer anämischer Ring.

F-Toxin:

Zehnpfennigstückgroße Infiltration, etwa linsengroße anämische Zone.

Nach 3mal 24 Stunden.

K-M-Toxin:	F-Toxin:
Besonders schön ausgebildete Kokarde von Fünfmarkstückgröße.	Zehnpfennigstückgroße Infiltration, Kokarde nur angedeutet.

Nach 7mal 24 Stunden.

K-M-Toxin:	F-Toxin:
Die Infiltration geht zurück. Die Kokarde ist kleiner, aber noch schön ausgebildet.	Die Infiltration ist nur noch fünfpfennigstückgroß; die Rötung gering.

Nach 9mal 24 Stunden.

K-M-Toxin:	F-Toxin:
Die Nekrose schreitet fort.	Die Reaktion klingt ab.

Nach 14 Tagen.

K-M-Toxin:	F-Toxin:
Über der Nekrose eine markstückgroße Schorfbildung, die sich abzustoßen beginnt.	Kaum noch merkbare Reaktion.

Alle Untersucher, die sich mit der wichtigen Frage der Toxinproduktion der Diphtheriebazillen beschäftigt haben, betonen, daß zur Gewinnung eines wirksamen Toxins ein guter Nährboden Bedingung ist. Von Einfluß ist fernerhin die Konzentration der Peptonkörper in der Bouillon und die Beschaffenheit des Fleisches, mit der sie hergestellt ist. Diesen Ansprüchen entsprechen am ehesten die Martinschen Nährböden. Daß nun auf K-M-Bouillon ohne jeden Peptonzusatz Toxin sogar in höherem Grade gebildet wurde als in der Kontrollbouillon, spricht wohl deutlich für den Wert der Milznährböden.

Anaerobier.

Es werden Bact. Tetani, Bac. Botulinus (ältere Sammlungsstämme) und ein frisch gezüchteter Gasbrandbazillus (Welch-Fraenkel) geprüft:

W-Agar nach 24 Stunden:

Tetanus	spärliches	Wachstum
Gasbrand	gutes	„
Botulinus	„	„

F-Agar:

Tetanus spärliches Wachstum
Gasbrand gutes, reiches „
Botulinus „ „ „

K-M-Agar:

Tetanus mäßiges Wachstum
Gasbrand gutes „ (aber nicht so gut wie auf F-Agar)
Botulinus „ „

Den geringen Unterschieden kann zunächst keine größere Bedeutung zugemessen werden, da die von der Luft und dem Nährboden abhängige Sauerstoffspannung keine ganz gleichmäßigen Voraussetzungen bot.

Farbstoffbildner.

Bac. Pyocyaneus (Sammlungsstamm). Bei der Kultur dieses Keimes auf K-M-Nährmedien ergab sich bereits nach wenigen Stunden zugleich mit stärkerem Wachstum eine erheblich deutlichere Farbstoffbildung als auf F-Agar. Nach weiteren 24 Stunden verstärkt sich der Unterschied noch. Das gleiche war auf den flüssigen Nährböden der Fall, wo die K-M-Bouillon dichteres Wachstum mit Häutchenbildung und deutliche Farbstoffproduktion zeigte, die sich der Bouillon mitteilte, während dieses Phänomen in der Kontrolle nur angedeutet blieb.

Zwei weitere Vertreter der Farbstoffbildner fanden wir in Luftcoccen, von denen der eine intensiv gelben, der andere einen rosa Farbton hatte. Bei diesen Keimen konnten wir dieselbe Beobachtung wie beim Pyocyaneus machen, und zwar war die Farbstoffbildung in der ersten Passage auf K-M-Nährböden nach 24 Stunden intensiv aufgetreten, während auf dem F-Agar zu dieser Zeit zwar Wachstum, aber keine Farbstoffbildung wahrzunehmen war. Bei weiteren Passagen brachten die Keime auch auf F-Agar Farbstoff hervor, der aber in keiner Weise die Intensität der auf K-M-Nährböden weitergezüchteten erreichte.

Zur Prüfung des Schleimbildungsvermögens diente ein Versuch mit dem

Pneumo-Bacillus Friedländer.

Auf K-M-Agar trat schon 8 Stunden nach Verimpfung gutes Wachstum mit Verschleimung auf, während auf den Kontrollen Wachstum nur angedeutet und von Verschleimung noch nichts sichtbar war. Nach 24 Stunden war auch auf der Kontrolle gute Schleimbildung wahrnehmbar, bei weiterer Beobachtung zeigte sich das Wachstum auf allen Nährböden annähernd gleich.

Außer den Mikroorganismen der Bakteriengruppe haben wir unsere Versuche auch auf einen den Protozoen angehörigen Vertreter ausgedehnt. Es handelt sich hierbei um einen Organismus der „Limax"-Amoebengruppe, die sich durch Genügsamkeit und Resistenz besonders in ihren Dauerformen auszeichnet. Wir lassen hier ein kurzes Protokoll folgen.

Amoeben.

Von einer Amoebenbouillonkultur, die Colibazillen als Nährbakterien enthielt, werden Abimpfungen auf K-M-Agar und F-Agar angelegt. Nach bei Zimmertemperatur erfolgtem 12stündigem Wachsen der Colibazillen in dichtem Rasen und einzelnen Impfstrichen ist auf K-M-Agar eine erste Andeutung von Amoebenwachstum in Form von Hauchbildung zu beobachten, während auf F-Agar noch keine Veränderung sichtbar ist. Nach 2mal 24 Stunden beginnt auf der K-M-Platte eine Verschleimung, der F-Agar zeigt noch keine Veränderung. Erst nach 3mal 24 Stunden ist auf diesem eine Andeutung von hauchartigem Wachstum, und um die einzelnen Impfstriche beginnt eine Verschleimung. Zu gleicher Zeit finden sich auf der K-M-Platte alle Zeichen typischen Amoebenwachstums ausgeprägt, die Impfstriche sind verschleimt, im Rasen machen sich leere Stellen als Merkmal von Amoebenwachstum bemerkbar, die sich in den nächsten Stunden schnell vergrößern. Nach 4mal 24 Stunden sind auf der K-M-Platte die einzelnen Impfstriche aufgefressen, der Rasen, soweit noch nicht gefressen, verschleimt. Auch auf F-Agar zeigt der Rasen jetzt reichlich Löcher, die im Laufe des Tages sich vergrößern und ineinander fließen. Nach 5mal 24 Stunden zeigt sich auf der K-M-Platte ein weiteres Fortschreiten der Amoeben, Rasen und einzelne Impfstriche sind völlig von Amoeben ergriffen, zum Teil schleimig umgewandelt, zum Teil beginnt bereits Eintrocknung. Auf F-Agar sind alle einzelnen Impfstriche schleimig umgewandelt, der Rasen ist erst zum Teil oder überhaupt noch nicht von Amoeben ergriffen. Nach 8mal 24 Stunden ist das Amoebenwachstum auf der F-Platte nur noch in geringem Maße fortgeschritten. Die Kultur auf der K-M-Platte erscheint völlig eingetrocknet.

Bei den mikroskopischen Präparaten (Manson-Färbung, die sich färberisch im großen ganzen gleich verhalten, fällt auf, daß die auf K-M-Agar gewachsenen Amoeben erheblich größer sind als die auf F-Agar. Diese zeigen ziemlich rundliche, intensiv farbstoffannehmende, schärfer begrenzte Formen (keine Cysten); die auf K-M-Agar gewachsenen Amoeben imponieren als größere, lockere und unscharf begrenzte Formen. Im Laufe der nächsten Tage verschiebt sich das Bild insofern, als auf F-Agar neben massenhaft vegetativen

Formen vom oben geschilderten Typus auch vereinzelte Cysten zu sehen sind. Auf K-M-Agar macht sich eine bedeutende Vermehrung der Dauerformen bemerkbar, die mit Zunahme der Eintrocknung der Kulturen wächst; Abimpfungen nach 14 Tagen, 3 Wochen und 8 Wochen ergeben von beiden Platten noch lebensfähige Amoeben.

Bei einem weiteren Versuch werden auf je einer F-Agar- und K-M-Agar-Platte fünf etwa markstückgroße Kringel aus einer Coccen und Stäbchen enthaltenden Bouillonkultur aufgetragen. Die Kringel sind etwa 2 cm voneinander entfernt. Nach 24stündigem gutem Wachstum werden an einer Ecke die Amoeben aufgetragen.

Nach 2mal 24 Stunden macht sich auf der K-M-Platte das erste Zeichen von Amoebenwachstum bemerkbar in der Form, daß der mit Amoeben beschickte Kringel hauchartige Ränder und beginnende Verschleimung zeigt. Auf der F-Agar-Platte ist noch kein Amoebenbefund.

Nach 3mal 24 Stunden breitet sich das Amoebenwachstum auf der K-M-Platte weiter aus. Auf der F-Platte zeigt sich an dem beschickten Kringel das erste Angehen der Amoebenkultur mit beginnender Verschleimung.

In mikroskopischen Präparaten (Manson-Färbung) zeigen sich auf der K-M-Platte kleine rundliche Amoeben in erheblich höherer Zahl als auf der F-Agar-Platte. Die Formen der K-M-Platte erscheinen gequollen.

Nach 4mal 24 Stunden sind auf der K-M-Platte die Amoeben auf die andern Kringel fortgeschritten (Hauchbildung und beginnende Verschleimung). Auf der F-Agar-Platte ist das Wachstum nur auf die zuerst beschickten Kringel beschränkt.

Nach 6mal 24 Stunden sind auf der K-M-Platte alle Kringel schleimig verändert und durchsetzt von Löchern, auf F-Agar ist das Amoebenwachstum weiter fortgeschritten, zwei Kringel sind schwach ergriffen, der Rasen ist vollständig erhalten. Am Rande hauchartige Trübung.

Nach 9mal 24 Stunden ist die ganze K-M-Agar-Platte von Amoeben überschwemmt, es finden sich nur noch Reste der aufgeimpften Bakterien. Auf der F-Agar-Platte ist das Wachstum erheblich spärlicher, auf der ganzen Platte ist jetzt auch Amoebenwachstum verbreitet.

In flüssigen Nährmedien der K-M- und F-Bouillon verhielten sich die Amoeben ähnlich wie auf den Platten. Hier aber hatte es den Anschein, als ob in K-M-Bouillon bei einzelnen Röhrchen ein früheres Zugrundegehen der Amoeben erfolge, da nach mehreren Monaten einzelne K-M-Bouillonröhrchen bei Überimpfungen im Gegensatz zu den F-Bouillon-Amoebenröhrchen kein Amoebenwachstum mehr angehen ließen. Andere dagegen enthielten noch lebensfähige Keime. Aus F-Bouillon konnten auch nach mehr als 12-monatlicher Beobachtung lebensfähige Amoeben herausgezüchtet werden.

Bei den Amoeben also scheint das ungestüme und ungehemmte Wachstum auf K-M-Nährmedien ein schnelleres Erlöschen der Lebensintensität zur Folge zu haben. Damit im Einklang würde auch das oben beschriebene frühzeitige Eintreten der Incystierung stehen.

Über die praktische Einführung eines Nährbodens entscheidet neben seiner Güte und Einfachheit vor allem der Herstellungspreis. Ich habe zur Prüfung dieser Frage folgende Berechnung aufgestellt. Zugrunde gelegt sind die Marktpreise Groß-Berlins und die Großhandelspreise im Durchschnitt der Monate Januar—Mai 1925.

Danach setzt sich der Preis der Fleischbouillon wie folgt zusammen: Pferdefleisch (bezogen vom Zentralviehhof) kostet 500 g = 60 Pfg., Witte-Pepton 500 g = 22,50 Mk., das heißt für 1 l Bouillon 10 g = 45 Pfg. Der Preis für die geringen Mengen des notwendigen Kochsalzes sowie der zur Alkalisierung notwendigen n/Sodalösung oder Natronlauge kann vernachlässigt werden. Es ergibt sich also als Preis der Fleischbouillon:

Pferdefleisch . . .	500 g	= 0,60 Mk.
Witte-Pepton . . .	10 g	= 0,45 „
		1,05 Mk. pro Liter Bouillon.

Die Kosten der Bouillonherstellung mit Liebigs Fleischextrakt betragen (453 g Liebigs Fleischextrakt = 9,50 Mk.)

Liebigs Fleischextrakt	10 g	= 0,21 Mk.
Witte-Pepton . . .	10 g	= 0,45 „
		0,66 Mk. pro Liter Bouillon.

Kalbsmilz-Bouillon. 500 g Kalbsmilz (Zentralviehhof) kosten 80 Pfg. Gebraucht werden:

Kalbsmilz	400 g	= 0,64 Mk.
Ringerlösung . . .	1 l	= 0,02 „
		0,66 Mk. pro Liter Bouillon.

Aus dieser Preisberechnung geht hervor, daß die Kosten für die Kalbsmilznährböden, selbst wenn sich anderorts der Bezug von Ringerlösung etwas teurer oder von Fleisch etwas billiger gestalten

sollte, beträchtlich hinter den aus Pferdefleisch gewonnenen zurückbleiben. Die Kalbsmilznährböden fallen im Herstellungspreis etwa mit den für Extraktbouillon geltenden zusammen, überragen sie aber an Wertigkeit um ein Vielfaches. Denn nach unseren Erfahrungen genügen Extraktnährböden selbst mittleren Ansprüchen nicht, sofern sie nicht durch irgendeinen Zusatz, z. B. von Ascites oder Pepton verbessert werden.

Diese wirtschaftlichen Vorteile, verbunden mit der einfachen Herstellungstechnik der Milznährmedien, berechtigen uns, gestützt auf die in der vorliegenden Arbeit niedergelegten Ergebnisse, die Einführung der K-M-Nährmedien in weitestem Maße zu empfehlen, denn sie stellen nach unseren Erfahrungen eine Verbesserung der gebräuchlichen Nährböden dar.

Wohl beachtet, wenn auch nicht ausführlich geprüft wurde die Frage, wie weit die Verwendung von Ringerlösung an Stelle der sonst üblichen Kochsalzlösung an der Nährbodenverbesserung beteiligt ist. Nachdem wir in einem orientierenden Versuch den Eindruck gewonnen hatten, daß die Ringerlösung nur eine untergeordnete Rolle dabei spielt, haben wir geglaubt, uns hiermit begnügen zu dürfen.

Ich möchte zum Schlusse nicht versäumen, den Herren Oberarzt Dr. Elkeles und Dr. Marcuse für die mir zuteil gewordene Unterstützung und Förderung meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1. Abderhalden, E., Neuere Ergebnisse aus dem Gebiet der speziellen Eiweißchemie. Jena 1909.
2. Abderhalden, E., Abwehrfermente des tierischen Organismus. 4. Aufl. 1914.
3. Abel, R., Bakteriologisches Taschenbuch. 13. Aufl. Würzburg 1920.
4. Abel, R., Überblick über die geschichtliche Entwicklung der Lehre von der Infektion, Immunität und Prophylaxe. Handb. der path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 1. Jena 1912.
5. Abel u. Wilhelm Hallwachs, Die Kapselbazillen (Bacillus pneumoniae Friedländer und verwandte Bakterien). Handb. der path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 6. Jena 1913.
6. Abt, G., et G. Loiseau, Réaction du milieu et production de la toxine diphthérique. Ann. de l'Inst. Pasteur Jahrg. 36 Nr. 7 S. 535—561. 1922.
7. Acklin, O., Über die Bestimmung des p_H-Gehaltes in der bakteriologischen Technik. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Originale 1924 Bd. 91 S. 538.
8. Allen, R. W., Die Vakzintherapie. Deutsch von R. E. S. Krohn. Dresden und Leipzig 1914.
9. Arndt, A., Zur Technik der Amoebenzüchtung. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. 1923 Bd. 88 S. 417.
10. Baumgarten, Lehrbuch der pathogenen Mikroorganismen. Leipzig 1911.
11. Bergell, P., und Fritz Meyer, Über eine neue Methode zur Herstellung von Bakteriensubstanzen, welche zu Immunisierungszwecken geeignet sind. Med. Klinik 1906 Nr. 16 S. 412.
12. Böhme, Die Anwendung der „Ehrlich"schen Indolreaktion für bakteriologische Zwecke. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. 1906 Bd. 60 S. 129.
13. Branigk, F., Peptonselbstbereitung. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. 1921 Bd. 86 S. 427.
14. Brandl, M., Über die Brauchbarkeit pflanzlicher Ersatzmittel des Fleischwassers zur Herstellung von Bakteriennährböden. Münch. Med. Woch. 1921 S. 142.
15. Braun, H., und C. E. Cahn-Bronner, Über die synthetischen Fähigkeiten pathogener Bakterien und ihr biologisches Verhalten unter einfachen Ernährungsbedingungen. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. Orig. Bd. 86 1. Mitteil. S. 1, 2. Mitteil. S. 196, 3. Mitteil. S. 380.
16. Brunhübner, G., und W. Geiger, Ein neues Verfahren zur Herstellung von Bakteriennährböden. Dtsche. Med. Wochenschr. 1921 Nr. 46.
17. Busse, W., Über die Fehlergröße und die Fehlerquellen im Opsoninversuch. Dtsche. Med. Wochenschr. 1919 Nr. 13.
18. Cantani, A., Über das Wachstum der Influenzabazillen auf hämoglobinfreien Nährboden. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 42, 1903, S. 505.
19. Conradi, R., und W. Bierast, Bacterium Coli commune als Krankheitserreger. Handb. f. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 6. Jena 1913.
20. Dieudonné, Immunität, Schutzimpfung und Serumtherapie. Leipzig 1911.

21. Drigalski, W. von, Differentialdiagnostische Nährböden. Arten und Herstellung. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus und Uhlenhut Bd. I, 1923.
22. Ermengem, van, Der Bacillus botulinus und der Botulinus. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 4. 1913.
23. Ficker, Martin, Methoden der Bakterienfärbung im Ausstrich. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 1. 1923.
24. Ficker, Martin, Die Methoden der Geißel-Kapsel- und Sporenfärbung. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 1. 1923.
25. Ficker, Martin, Die Methoden der Immunisierung einschl. Herstellung von Antigenen. Handb. der path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2, 2. Jena 1913.
26. Ficker, Martin, Die Methoden der Antikörperdarstellung. Handb. der path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2, 2. Jena 1913.
27. Ficker, Martin, Zur Agglutinationstechnik. Hygien. Rundschau 1902.
28. Fischer, Bitter u. Wagner, Vereinfachung und Verbilligung der Herstellung von Choleraimpfstoff. Münch. Med. Woch. 1915 S. 770 u. 813.
29. Frieber, Walter, Beiträge zur Frage der Indolbildung und der Indolreaktion sowie zur Kenntnis des Verhaltens indolnegativer Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 87 S. 254. 1923.
30. Friedberger, E., Die bactericiden Sera. Handb. der path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2, 2. 1913.
31. Friedberger, E., und F. Schiff, Die Methoden des Tierversuchs. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 2. 1923.
32. Friedberger, E., und H. Reiter, Die allgemeinen Methoden der Bakteriologie. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 1. 1912.
33. Fries, Eine einfache Methode zur genauen Bestimmung der Bakterienmenge in Bakteriensuspensionen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 86 S. 90. 1921.
34. Gaßner, G., Hefewassernährböden und ihre Bewertung. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 79 S. 308.
35. Gäthgens, Über die Verwendung von Kartoffelwasser zur Herstellung fester Bakteriennährböden. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 78 S. 45. 1916.
36. Ghon und Preyß, Studien zur Biologie des Influenzabazillus. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 32. 1902; Bd. 35. 1904.
37. Gläßner, K., Über den Einfluß der chemischen Zusammensetzung des Nährbodens. auf die Immunkörper. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie Bd. 1 S. 640. 1905.
38. Giemsa, Methoden zur Färbung der Protozoen. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 1. 1923.
39. Gildemeister, E., Nährböden. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 1. 1923.
40. Gildemeister, E., Über den Ersatz von Nutrose in Bakteriendifferentialnährböden. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 87 S. 75. 1922.
41. Gildemeister und Baerthlin, Beitrag zur Cholerafrage. Münch. Med. Woch. 1915 S. 705.
42. Gottschlich, E., Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 1. 1913.
43. Guggenheimer, Hefewasserpeptonagar als Ersatz für Fleischwasserpeptonagar. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 77 S. 363. 1916.
44. Gutfeld, Fritz von, Die Eignung verschiedener Peptonpräparate für die bakteriologische Technik. Zentralbl. f. Bakt. Abt. 1 Orig. Bd. 92 S. 143. 1924.
45. Hajos, K., Beiträge zur Frage wachstumshemmender Wirkung in Bouillonkulturen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 88 S. 583.

46. Heim, L., Lehrbuch der Bakteriologie. 6. u. 7. Aufl. Stuttgart 1922.
47. Heller und O. E. Lepère, Bacillus pyocyaneus. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 5. 1912.
48. Heller und F. Krummbein, Die Immunisierung größerer Tiere und die Serumgewinnung. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 3. 1913.
49. D'Herelle, Le bactériophag et son rôle dans l'immunité. Monographie 2. Aufl. 1922. Deutsch von Pfreiembler, Sell und Pistorius.
50. v. Hiebler, Untersuchungen über die pathogenen Anaeroben. Jena 1918.
51. Hottinger, Nachprüfung und Kritik der üblichen Bouillonbereitung. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 67 S. 178. 1913.
52. Hübener, Fleischvergiftungen und Paratyphusinfektionen. Jena 1910.
53. Jochmann, G., Beiträge zur Kenntnis der Influenza und Influenzabazillen. Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 84. 1906.
54. Jochmann, G., Leucocythen-Fermente und Antifermente. Handb. f. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2, 2. 1913.
55. Jötten, K. W., Untersuchungen über Hefenährböden. Arbeiten aus dem RGA. Bd. 52 S. 339. Jahrg. 1920.
56. Kahlfeld und Wahlich, Bakteriologische Nährbödentechnik. Berlin 1916.
57. Kister, I., Hefenährböden aus Hefeextrakt und Hefepepton. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 87 S. 477. 1922.
58. Kolle, W., und H. Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. Berlin-Wien 1919.
59. Kolle und A. Wassermann, Untersuchungen über Meningococcen. Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906.
60. Kraus, R., Präcipitine. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2, 2. 1913.
61. Kreßler, A., Hefeextraktnährböden. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 80 S. 380.
62. Kristensen, M., Untersuchungen über hämoglobinophile Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 90 S. 182.
63. Kruse, W., Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig 1910.
64. Kuczynski, Max H., Studien zur Ätiologie und Pathogenese des Fleckfiebers. Virchows Arch. f. pathol. Anatomie u. Physiologie Bd. 242 Heft 3.
65. Kuczynski, Max H., und W. Ferner, Praxis der Bakteriennährböden I. Klin. Woch. Jahrg. 2 Nr. 18.
66. Küster, E., Kultur der Mikroorganismen. Leipzig-Berlin 1913.
67. Kutscher, K. H., Abdominaltyphus. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 3. 1913.
68. Laubenheimer, Allgemeine Bakteriologie und Sterilisationslehre. Jena 1915.
69. Lauken, K., und M. Meyer, Über den Pilznährboden nach Much-Pinner. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 86 S. 510. 1921.
70. Lehmann, K. B., und R. A. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. München 1920.
71. Lentz, Otto, Dysenterie. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann Bd. 3. 1913.
72. Levinthal, W., Bakteriologische und serologische Influenza-Studien. Zeitschr. f. Hygiene 1918 Bd. 86 S. 1.
73. Lichtenstein, St., Hefenährböden aus einem Hefepräparat der Fabrik „Cenovis" in München.
74. Lingelsheim, W. v., Tetanus. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 4. 1912.
75. Lingelsheim, W. v., Die Streptococcen. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 5. 1913.
76. Löffl, Plasmanährstoff für Massenkulturen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 77 S. 105. 1916.

77. Lubenau, C., Zur Säurebildung der Diphtheriebazillen. Arch. f. Hygiene Bd. 66 Heft 4 S. 305 u. 335.
78. Marx, E., Zur Vereinfachung der Nährbodendarstellung mittels Ragitpulver. Münch. Med. Woch. 1910 Nr. 7.
79. Metschnikoff, Elias, Die Lehre von den Phagocythen und deren experimentelle Grundlagen. Handb. f. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2, 2. 1913.
80. Metschnikoff, Elias, Immunität bei Infektionskrankheiten. Übersetzt von J. Meyer. Jena 1912.
81. Michaelis, G., Die Lehre von den Opsoninen in ihrer Bedeutung für die Praxis. Vers. d. Naturforscher und Ärzte in Königsberg 1910.
82. Michaelis, G., Grundlagen und Technik der experimentellen spezifischen Bakteriotherapie (Opsonine). Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 3. 1913.
83. Michaelis, L., Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914.
84. Michaelis, L., Praktikum der physikalischen Chemie. Berlin 1921.
85. Morgenroth, Über Diphtherietoxin und Antitoxin. Therapeut. Monatshefte Heft 1. 1909.
86. Müller, Paul Th., Vorlesungen über Infektion und Immunität. Jena 1917.
87. Neißer, M., Die Staphylococcen. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 5. 1913.
88. Neißer, M., und H. Gins, Über Diphtherie. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 5. 1913.
89. Neißer, M., und Guerrini, Über Opsonine und Leukostimulantien. Arb. a. d. Kgl. Institut für exp. Therapie zu Frankfurt a. M. 1908 Heft 4.
90. Neißer, M., und W. Frieber, Indol- und Phenolbildung durch Bakterien. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut.
91. Neufeld, F., Über Immunität und Agglutination der Streptococcen. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 44 S. 161. 1903.
92. Neufeld, F., Bakteriotropine und Opsonine. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2, 2. 1913.
93. Neufeld, F., und S. Händel, Pneumococcen. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 4. 1912.
94. Nöller, W., Die Züchtung der tierischen Parasiten und Krankheitserreger auf künstlichen Nährböden. Handb. d. mikrobiol. Tecknik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 1. 1923.
95. Otto, R., und G. Blumenthal, Nachweis der Giftbildung. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 2. 1923.
96. Otto, R., und Hans Munter, Bakteriophagie (D'Herellesches Phänomen). Weichhardts Ergebnisse der Hygiene Bd. 6 S. 1. 1924.
97. Otto, R., und Hans Munter, Nachweis des bakteriophagen Lysins (D'Herellesches Phänomen). Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 2. 1923.
98. Paltauf, R., Die Agglutination. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann.
99. Pesch, K. L., Über Natur und Bildung der Diphtheriepolkörperchen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 92 S. 208.
100. Pesch, K. L., Untersuchungen zur Einteilung der diphteroiden Bakterien. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 92 S. 27.
101. Pfeiffer, R., Zur Theorie der Virulenz. Festschrift zu Ehren Robert Kochs. 1903.
102. Pfeiffer, R., Die Ätiologie der Influenza. Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 13. 1892.
103. Pfeiffer, R., Vorläufige Mitteilungen über den Erreger der Influenza. Dtsche. Med. Wochenschr. 1892 Nr. 2.

104. Pfeiffer, R., Über Bakterien-Endotoxine und ihre Antikörper. Jahresber. über die Ergebnisse der Immunitätsforschung Bd. 6 Nr. 13. 1910.
105. Pick, E. P., Biochemie der Antigene mit besonderer Berücksichtigung der chemischen Grundlagen der Antigenspezifität. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 1. 1912.
106. Pribram, Ernst, Hämotoxine und Antitoxine der Bakterien. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 1. 1912.
107. Pringsheim, E., Zur Verbilligung und Verschärfung der Indolreaktion. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 82 S. 318. 1918.
108. Proca, G., Milieux de culture simplifiés. C. r. Bd. 90 Nr. 15 S. 1164/65.
109. Reiter, H., Über Vaccine-Therapie. Berliner Klin. Woch. 1909 Nr. 29.
110. Reiter, H., Die Technik der Opsoninbestimmung. Dtsche. Med. Woch. 1910 Nr. 52.
111. Reiter, H., Hefenährböden. Dtsche. Med. Woch. 1917 S. 1201.
112. Sachs, H., Hämolysine des Blutserums (Cytotoxische Sera). Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2. 1913.
113. Sachs, H., und H. Rietz, Experimentelle spezifische Diagnostik mittels Agglutination, Bakterizidie (Lyse) und Komplementbildung. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 2. 1913.
114. Salus, G., Zur Phenol- und Indolbildung durch Bakterien und zum Nachweis dieser Körper in Kulturen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 88 S. 103. 1922.
115. Salus, G., Sporen und Bestimmung der Bakterienresistenz. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 2. 1922.
116. Schattenfroh, A., Die anaeroben Züchtungsverfahren. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 2. 1923.
117. Scheller, R., Die Gruppe der hämoglobinophilen Bakterien. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 5. 1913.
118. Schumacher, J., Welche chemische Substanz baut die Polkörperchen des Diphtheriebazillus auf? Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 88 S. 362. 1922.
119. Sobel, Praktische Nährböden zur Diagnose von Cholera, Typhus und Dysenterie. Dtsche. Med. Woch. 1915 S. 1573.
120. Sobernheim, Die Lehre von der Immunität. Handb. d. allg. Pathol. von Krehl-Marchand Bd. 1. Leipzig 1901.
121. Sobernheim, Milzbrand. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 3. 1913.
122. Sommer, H., Die Keimzählung in Bakterienimpfstoffen auf mikroskopischem Wege. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 90 S. 468. 1923.
123. Standfuß, R., und E. Kallert, Ein neuer Bakteriennährboden. Zentrabl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 85 S. 224.
124. Strauß, Walter, Über die Verwendbarkeit des Peptonum sicc. „Riedel" für bakteriologische Zwecke. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 92 S. 142. 1924.
125. Szaß, A., Ein billiger Nährboden (Bouillon) aus Blutkuchen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 75 S. 489. 1915.
126. Szaß, A., Ein einfaches Verfahren zur Bouillonbereitung aus Blutkuchen. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 77 S. 111. 1916.
127. Uhlenhut, P., und E. Hübener, Infektiöse Darmbakterien der Paratyphus-Gärtnergruppe einschl. Immunität. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 3. 1913.
128. Ungermann, E., Allgemeines über die Ernährung und Züchtung der Mikroorganismen. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 1. 1923.
129. Wassermann, A. v., und Dr. Keysser, Wesen der Infektion. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 1. 1912.

130. Werdt, F. v., Der Gasbrand und sein Erreger. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 4. 1912.
131. Wernicke, E., Die Immunität bei Diphtherie. Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle u. Wassermann Bd. 5. 1913.
132. Wiegert, E., Über die Verwendung von Pilzextrakt an Stelle von Fleischextrakt bezw. Fleischwasser zur Herstellung von Bakteriennährböden. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 89 S. 109.
133. Wright, A. E., Studien über Immunisierung und ihre Anwendung in der Diagnose und Behandlung von Bakterieninfektionen. Jena 1909.
134. Wülker, G., Die Technik der Amoebenzüchtung. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Ref. 50 S. 571. 1911.
135. Zeißler, Joh., Die Technik der Anaerobierzüchtung. Handb. d. mikrobiol. Technik von Kraus u. Uhlenhut Bd. 2. 1923.

Lebenslauf.

Verfasser wurde am 6. Mai 1900 in Breslau als Sohn des verstorbenen Kaufmanns Fedor Berger und seiner Ehefrau geb. Danziger geboren. Er besitzt die preußische Staatsangehörigkeit. Er besuchte in Breslau das Städtische St. Elisabeth- und St. Johannes-Gymnasium und bestand dort im März 1919 die Reifeprüfung. Er studierte dann in Breslau und München Medizin, legte im Sommersemester 1922 in Breslau die ärztliche Vorprüfung, im Sommersemester 1924 ebenda die ärztliche Prüfung ab. Das praktische Jahr begann er am physiologisch-chemischen Institut der Universität Breslau (Leiter Prof. Dr. E. Schmitz) und setzte es dann an der II. inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses am Friedrichshain in Berlin (Leiter Prof. Dr. P. F. Richter) fort, wo er vier Monate blieb.

Zurzeit ist er als Medizinalpraktikant am Städtischen Untersuchungsamt für ansteckende Krankheiten, Charlottenburg (Leiter Dr. G. Elkeles) tätig.

Friedrich Berger.